

Mikromorphologische Untersuchungen
der Schizogonie, Endodyogenie,
Zystenwandentwicklung und
Zystendegeneration bei *Sarcocystis dispersa*
in der Maus

Fritz Schöller

1982



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554007_0109

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin und
Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch

Mikromorphologische Untersuchungen der Schizogonie,
Endodyogenie, Zystenwandentwicklung und Zysten-
degeneration bei Sarcocystis dispersa
in der Maus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Fritz Schöller
aus
Habelsee

München 1982

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan : Prof. Dr. G. Terplan
Referent : Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch
Korreferent : Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann

Tag der Promotion: 26. Februar 1982



DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

Seite

I.	Einleitung	1
II.	Biologie und Feinstruktur der Sarkosporidien im Zwischenwirt (anhand der Literatur).....	2
III.	Eigene Untersuchungen	15
	A. Material und Methoden	15
	B. Ergebnisse	19
	1. Lichtmikroskopische Untersuchungen	19
	2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen	24
IV.	Besprechung der Ergebnisse	53
V.	Zusammenfassung	63
	Summary	64
VI.	Literaturverzeichnis	66

Lebenslauf

I. Einleitung

Sarkosporidien machen im Zwischenwirt ungeschlechtliche Vermehrungen durch. Im Vordergrund steht dabei die schnelle Anfangsvermehrung in Form der Schizogonie(n) in der Leber, den Nierenkapillaren oder den Endothelzellen der kleinen Blutgefäße. Dabei gebildete Merozoiten gelangen auf dem Blut- oder Lymphweg in die Muskulatur, wo sie Zysten bilden. In diesen laufen nach Transformation der Merozoiten zu Metrozyten weitere ungeschlechtliche Vermehrungen in Form von Endodyogenien ab. Die Zystozoiten stellen für den Endwirt die Infektionsstadien dar.

Weiterführende Untersuchungen zur Klärung der zeitlichen Abläufe und der dabei jeweils auftretenden Schizontenstadien sind für Klinik und Pathologie von Interesse. Für die Ausbildung der Immunantwort spielt die Anzahl der Schizogonien eine Rolle. Dafür sind auch Kenntnisse über Aufbau sowie Proteinpaketgröße und -verteilung auf der Pellikula der Merozoiten bzw. Zystozoiten wichtig. Schließlich stellt die Entwicklung der Zystenwand ein speziesspezifisches Charakteristikum dar. Das Schicksal der sehr lange bestehenden Zysten und der darin befindlichen Zystozoiten ist noch kaum untersucht.

Gegenstand der vorliegenden Untersuchungen war es deshalb, für die Klärung dieser Fragen am Modell von *Sarcocystis dispersa* im Zwischenwirt Maus die histologischen und ultra-histologischen Grundlagen zur Morphologie dieser betreffenden Stadien zu erarbeiten. Außerdem sollten die Strukturen der Membranoberflächen mit der Technik der Gefrierätzung dargestellt werden.

II. Biologie und Feinstruktur der Sarkosporidien im Zwischenwirt (anhand der Literatur)

Vermutungen, daß Sarkosporidien zu den Kokzidien gehören, wurden durch Feinstrukturuntersuchungen von SCHOLTYSECK und PIEKARSKI (1965) sowie SENAUD (1967) geäußert. Auch FAYER (1970, 1972) schlug nach seinen Studien über die Gamogonie von Sarkosporidien in embryonalen Zellkulturen von Säugern und Vögeln nach Infizierung mit Zystenstadien aus der Starmuskulatur eine Zuordnung zu den Kokzidien vor. ROMMEL, HEYDORN und GRUBER (1972) sowie ROMMEL und HEYDORN (1972) waren der Ansicht, es müsse sich bei den Sarkosporidien um eine obligat zweiwirtige Parasitenart handeln, mit einer ungeschlechtlichen Entwicklung und nachfolgender Zystenbildung im Zwischenwirt, sowie einer geschlechtlichen Entwicklung mit Oozysten- und Sporozystenbildung im Endwirt; denn es schieden nach Genuß von rohem zystenhaltigem Fleisch von Rind, Schaf oder Schwein Hund, Katze oder Mensch sporulierte Oozysten und Sporozysten vom Isospora Typ aus. MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH (1975c) gelang für *Sarcocystis fusiformis* (Endwirt Mensch) die Rückübertragung. Es wurden Kälber mit hohen Dosen von *Isospora hominis*-Sporozysten infiziert, die von Versuchspersonen nach Genuß von *Sarcocystis fusiformis*-haltigem Rindfleisch ausgeschieden worden waren.

Nach Aufnahme infektionstüchtiger Sporozysten durch den spezifischen Zwischenwirt kommt es in den Endothelien der Gefäße zur ungeschlechtlichen Entwicklung, der Schizogonie. Klinische Symptome während dieser Phase in Form von Fieber, Hämatokritabfall und schlechtem Allgemeinbefinden bis hin zum Tod sind offensichtlich abhängig von der Infektionsdosis. Von *Sarcocystis fusiformis* (Endwirt Hund) berichten FAYER und JOHNSON (1973) sowie von *Sarcocystis*

ovicanis GESTRICH, SCHMITT und HEYDORN (1974), daß die Schizonten hochpathogen sind; ähnliches gilt für Sarkosporidien aus Schlangen (RZEPZYK, 1974; BREHM, 1979).

Die Schizogonie von *Sarcocystis suicanis* studierten HEYDORN, MATUSCHKA und IPZYNSKI (1981). Sie infizierten sieben Ferkel im Alter von 3-5 Wochen oral mit unterschiedlichen Dosen von Sporozysten. Die Tiere wurden am 5., 6., 7., 8. und 12. Tag p.i. getötet bzw. waren verendet. Anhand von Tupf- und Schnittpräparaten konnten die Autoren am 6. und 7. Tag in der Leber unreife und reife Schizonten beobachten. Der Zellkern des Parasiten füllte nahezu das ganze Zytoplasma der Wirtszelle aus und drückte den Wirtszellkern an die Peripherie. Erst am 12. bzw. 13. Tag p.i. wurden nochmals Schizonten gefunden; sie waren lichtmikroskopisch nicht von denen früherer Generationen zu unterscheiden. Die Autoren sahen die Existenz zweier aufeinanderfolgender Schizontengenerationen damit als bewiesen an. ERBER und GEISEL (1979) haben nach experimentellen Infektionen diese Vermutung für *Sarcocystis suicanis* geäußert.

Weitere Veröffentlichungen über das Auftreten von zwei Schizontengenerationen liegen vor von HEYDORN und IPZYNSKI (1978) für *Sarcocystis suihominis*; sie beobachteten zwei Temperaturanstiege. BREHM (1979) stellte für *Sarcocystis singaporensis* ebenfalls Temperaturmessungen an und gab als Zeitpunkt den 6. und den 16. Tag an. GESTRICH, HEYDORN und BAYSU (1975) haben an *Sarcocystis fusiformis* den 7.-10. Tag und den 17.-22. Tag als Zeitpunkt für die beiden Schizogonien ermittelt. Schließlich berichten MUNDAY, BARKER und RICHARD (1975) bei Schafen sowie ZAMAN und COLLEY (1976) bei Ratten und FAYER (1977) bei Rindern von zwei Schizontengenerationen.

In vielen Arbeiten wird übereinstimmend berichtet, daß sich die Schizonten stets im Zytoplasma der Wirtszelle befinden. Nach HEYDORN und MEHLHORN (1978) sind sie von einer dreischichtigen Membran umgeben, haben ovoide oder sphärische Form und einen Durchmesser von 7 μ m. Sie enthalten neben Mitochondrien und endoplasmatischem Retikulum vereinzelt auch Mikroporen. Der Kern, der von der typischen Kernmembran umgeben ist, erscheint anfangs zylindrisch. Er teilt sich nicht, wie bei den meisten Kokzidienarten, sondern wächst zu einem vielgelappten Riesengebilde heran. Diese verschiedenen Stadien sah CERNA (1977) in ihrer lichtmikroskopischen Arbeit über *Sarcocystis dispersa* als 2-4-8-16-usw. Kernstadium an. Die Bildung von Merozoiten beginnt damit, daß an der Peripherie des Kerns Kernspindeln sichtbar werden. Im Zytoplasma der Mutterzelle bilden sich Merozoitenanlagen und nun setzt die Differenzierung der späteren Zellorganellen Conoid, Rhoptries, Mikronemen usw. ein. Die Merozoitenanlagen übernehmen je ein Stück des vielgelappten Riesenkerns und schieben sich in die Ausstülpungen der Schizontenpellikula ein. Schließlich sprengen die Tochterzellen die Pellikula des Schizonten, wobei sie dessen äußerste Schicht übernehmen. Die Wirtszelle geht zugrunde, während die Merozoiten in der Muskulatur die Zystenbildung induzieren.

Im Gegensatz zu HEYDORN und MEHLHORN (1978) wird die Membran bei *Sarcocystis cruzi*-Schizonten der zweiten Generation von PACHECO und FAYER (1977) nicht als drei-, sondern als zweischichtig dargestellt. Es wurde ein 6 Monate altes Fleckviehkalb mit sporulierten Oozysten des Hundes infiziert und nach 29 Tagen getötet. Die Schizogonie fand in den Nierenglomeruli statt. Die Autoren schließen zwar eine echte Kernteilung, wie sie sie auf einigen ihrer elektronenmikroskopischen Aufnahmen zu erkennen glaubten, nicht aus, beschreiben aber auch das Bild des vielgelappten Riesenkerns.

1980 haben DUBEY, SPEER und DOUGLASS ihre Arbeit über die erste Generation von "Meronts" von *Sarcocystis cruzi* publiziert. Sie infizierten Kälber mit Sporozysten aufschwemmungen aus dem Kot von Koyoten, töteten diese in gleichmäßigen Abständen vom 6.- 28. Tag p.i. und unterschieden zwischen jungen, intermediären und reifen Meronten. Die jungen haben eine doppelte Pellikula, sind ovoid und beinhalten neben einem großen Kern noch verschiedene Organellen, insbesondere Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum und Ribosomen. In den Intermediärmeronten vollzieht sich die Heranreifung von Merozoiten, die von PACHECO und FAYER (1977) als Endopolygenie bezeichnet wurde. In den reifen Meronten fallen 2-4 Residualkörper auf, die mit Ribosomen, endoplasmatischem Retikulum und Lipid gefüllt sind, aber kein Nukleoplasma enthalten.

Alle Autoren, die sich mit der Schizontenentwicklung beschäftigt haben, sprechen übereinstimmend davon, daß der Parasit niemals von einer parasitophoren Vakuole umgeben ist.

Eine sehr ausführliche Darstellung der Zystenbildung liegt von MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH (1975c) vor. Sie stellten fest, daß bei oral mit Sporozysten von *Sarcocystis fusiformis* (Endwirt Mensch) infizierten Kälbern am 40. Tag p.i. die Zystenbildung beginnt. Stets entstehen die Zysten, die innerhalb der Muskelfaser liegen, aus einer den Merozoiten umgebenden parasitophoren Vakuole, wie sie allen Darmkokzidien eigen ist (SCHOLTYSECK und PIEKARSKI, 1965; MEHLHORN und SCHOLTYSECK, 1974). Da die Begrenzungsmembran der parasitophoren Vakuole durch unterlegtes osmiophiles Material verstärkt ist, wird der ganze Komplex als Primärhülle bezeichnet. Während des Zystenwachstums wird eine Auffaltung und eine damit verbundene Oberflächenvergrößerung

der Primärhülle beobachtet. Auf diese Weise entstehen etwa gleichlange palisadenartige Vorwölbungen, die bei alten Zysten etwa 7 μ m lang sind; die Wand zeigt in lichtmikroskopischer Ansicht eine radiale Streifung. In den Vorwölbungen befinden sich 40-70 Fibrillen, die von der Zystengrundsubstanz bis in die Spitze ziehen und untereinander durch Querverbindungen Kontakt halten. Bei älteren Zysten vereinigen sie sich nach MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN (1976) zu großen tubulären Strukturen.

Die zweite beim Rind vorkommende Sarkosporidienart, *Sarcocystis fusiformis* (Endwirt Hund) wurde 1975 von MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH beschrieben. Die Zysten, deren Bildung am 34. Tag p.i. beginnt, sind durch eine dünne Wand im Lichtmikroskop gekennzeichnet, im Gegensatz zur dicken Wand bei *Sarcocystis fusiformis* (Endwirt Mensch). MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN (1976) zeigen in ihrer den Wandaufbau von *Sarcocystis*-Zysten vergleichenden Arbeit, daß die meist im Querschnitt zu sehenden Vorsprünge bei *Sarcocystis bovicanis* eng an der Oberfläche anliegen; sie sehen als Ursache dafür das Fehlen oder auch Nichterkennen von fibrillärem Material an.

Sarcocystis bovifelis erscheint lichtmikroskopisch wieder als dickwandig mit 5,5 μ m langen Vorwölbungen. Die palisadenartigen Ausstülpungen sind hier nach GESTRICH, MEHLHORN und HEYDORN (1975) ebenfalls mit Fibrillen ausgefüllt, die aber nicht untereinander in Verbindung stehen.

Mit Hilfe von Fütterungsversuchen sowie nachfolgenden ultrastrukturellen Untersuchungen der Zystenwand konnte nachgewiesen werden, daß sich hinter *Sarcocystis tenella* beim Schaf zwei verschiedene Arten mit unterschiedlichen Endwirten verbergen. *Sarcocystis ovis* hat aufrechtstehende, palisadenartige, etwa 3,5 μ m lange Vorwölbungen

ohne Fibrillen im Inneren (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH, (1975a). Überall dort, wo lange Ausläufer der Primärhülle auftreten, werden zahlreiche Filamente in ihnen beobachtet.

Bei *Sarcocystis ovifelis* kommt es zur Ausbildung einer Sekundärhülle, die ausschließlich von der Wirtszelle gebildet wird, aus fibrillärem Material besteht und der Abkapselung dienen soll. Die Vorwölbungen haben im elektronenmikroskopischen Bild ein blumenkohlartiges Aussehen, während lichtmikroskopisch nichts Auffälliges zu bemerken ist. Die Fibrillen im Inneren sind Mikrotubuli; sie verlaufen in verschiedenen Richtungen (MEHLHORN und SCHOLTYSECK, 1973; SCHOLTYSECK, MEHLHORN und MÜLLER, 1974; MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN, 1976). Aufgrund von Studien der *Sarcocystis tenella*-Zysten aus der Oesophagusmuskulatur des Schafes sind SCHOLTYSECK, MEHLHORN und MÜLLER (1974) der Meinung, die Zyste sei ein Gebilde, das aus der ehemaligen Wirtszelle hervorgegangen ist. Sie führen weiter aus, daß die Zystengrundsubstanz aus dem Kern und dem Zytoplasma der degenerierten Wirtszelle hervorgeht, vermennt mit dem Inhalt der parasitophoren Vakuole; außerdem sind rudimentäre Myofibrillen innerhalb der Grundsubstanz zu finden.

ERBER (1977) berichtet über die Möglichkeit der Differenzierung von zwei Sarkosporidienarten des Schweines ab dem 81. Tag p.i. im Lichtmikroskop. Bei *Sarcocystis suis* sind die Vorwölbungen der Zystenwand $1,3 \times 5 \mu\text{m}$ und stehen senkrecht auf der Oberfläche, während sie bei *Sarcocystis suihominis* zum Teil flach an der Zystenwand anliegen und $0,8 \times 13 \mu\text{m}$ in den Abmessungen betragen. Licht und elektronenmikroskopische Untersuchungen von *Sarcocystis suihominis* (MEHLHORN und HEYDORN, 1977) zeigen die Filamente der Vorwölbungen anfangs unregelmäßig, später in konzentrischen Ringen angeordnet.

GÖBEL, KATZ und ERBER (1978) infizierten 6 Ferkel oral mit Sporozysten aus dem Kot von Hunden, die zuvor mit rohem sarkosporidienhaltigem Schweinefleisch gefüttert worden waren. Ab dem 32. Tag p. i. fanden sie junge Zysten in der Skelettmuskulatur der getöteten Tiere. Die Zystenwand hat zahlreiche aufrechtstehende, palisadenartige Vorwölbungen, wobei Länge und Durchmesser mit denen bei Wildschweinen festgestellten Werten übereinstimmen (MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN, 1976). In dieser Arbeit über die Wildschweinsarkosporidien werden die Fibrillen im Inneren der Vorwölbungen als ca 70 mikrotubuliähnliche Strukturen in einer einzigen Schicht liegend beschrieben. BERGMANN und KINDER (1976) fanden zwei Zystenarten bei Wildschweinen, die sich durch verschiedene Form und Anordnung der Zotten unterschieden.

In Untersuchungen über Verbreitung und Zyklus von *Sarcocystis equicanis* kamen ROMMEL und GEISEL (1975) zu dem Ergebnis, daß die Befallsrate mit steigendem Alter zunimmt. Sie verfütterten Zysten in der Oesophagusmuskulatur von Pferden an Hund und Katze, wobei nur der Hund nach 8 Tagen Sporozysten ausschied. GÖBEL und ROMMEL (1980) untersuchten Zysten von *Sarcocystis equicanis* aus der Schlundmuskulatur eines 7-jährigen Pferdes. Sie beschrieben die 2-3 µm langen Vorwölbungen als schräg zur Zystenoberfläche stehend und die Primärhülle als in sich nochmals aufgefaltet. Das tiefe Hineinreichen der Filamentbündel in die Grundsubstanz sowie den Verlauf der Filamente bis fast in die Spitze der Vorwölbungen sehen sie für diese Sarkosporidienart als charakteristisch an. Die Funktion dieser Filamente ist nach ihrer Ansicht nicht die einer Versteifung; sie schließen sich vielmehr der von LUDVIK (1960) geäußerten Meinung an, daß sich die Filamente am Nahrungstransport ins Zysteninnere beteiligen.

Bei Sarkosporidienzysten des Rehwildes machten BERGMANN und KINDER (1976) auf Zotten aufmerksam, die gestreckt und radiär verlaufen und einfache sowie doppelte Mikrofilamente mit Querstreifung enthalten. Eine zweite Art ist frei von Mikrofilamenten. Bei beiden ist die osmiophile Unterlagerung zu sehen, allerdings in unterschiedlicher Dicke. ENZEROTH (1980) unterschied in seiner Untersuchung zum Lebenszyklus von *Sarcocystis*-Species in Reh und Hund sechs verschiedene Wandtypen anhand der Fortsätze. Er stellte fest, daß bestimmte Typen auch in anderen Tierarten auftreten, allerdings von anderer Größe sind.

Von BREHM (1979) liegt eine Arbeit über *Sarcocystis singaporensis* in der Ratte mit Hauptwirt Netzpython vor. Schon am 25. Tag p.i. wurden Zysten in Zunge, Oesophagus, Zwerchfell und Oberschenkel gefunden. Die Zystenwand ist vergleichbar mit der bei Zysten der australischen Ratte (RZEP CZYK und SCHOLTYSECK, 1976) mit 9,6 μ m langen stabilen Fortsätzen.

RUIZ und FRENKEL (1976) untersuchten *Sarcocystis muris*, zum erstenmal von MIESCHER (1843) als milchig weiße Streifung in der Skelettmuskulatur von Hausmäusen beschrieben. *Sarcocystis muris*, bei der die Katze als Endwirt fungiert, verursachte bei den befallenen Mäusen Muskelläsionen, Myositis und Bewegungsstörungen, was von HOFER (1981) bestätigt wurde. Während Ratten, Hamster sowie Meerschweinchen nicht infiziert werden konnten, stellt das Frettchen einen zusätzlichen Endwirt für diese Spezies dar (ROMMEL, 1979). Elektronenoptisch beschäftigten sich SHEFFIELD, FRENKEL und RUIZ (1977) mit *Sarcocystis muris*. Die Zystenwand, die sich im Laufe der Entwicklung kaum verändert, wird als eine mit Bläschen versehene Membran geschildert, wobei diese Bläschen wie sphärische Vesikel mit kurzen Stielen erscheinen, sehr unregelmäßig angeordnet und mit granulärem Material angefüllt sind.

Eine weitere Sarkosporidienart der Maus ist *Sarcocystis dispersa* (CERNA, 1976). In der Muskulatur von Feld- und Labormäusen, die mit Schleiereulenkot infiziert worden waren, konnten die Autoren die Bildung von Zysten verfolgen. Die Verfütterung zystenhaltiger Muskulatur an Schleiereulen und Waldohreulen führte lediglich bei Schleiereulen ab dem 9. Tag p.i. für 7 Tage zur Sporozystenausscheidung (CERNA, KOLAROVA und SULC, 1977). SENAUD und CERNA (1978) beschrieben die Zystenwand bei 3 Monate alten Zysten als zahnradähnlich mit ca 1 μ m langen Vorwölbungen.

MEHLHORN, HEYDORN und JANITSCKE (1977) fanden in der Muskulatur verschiedener Affenarten Muskelzysten von Sarkosporidien; die Primärhülle dieser Formen war mit 100 nm viel stärker ausgebildet als die der meisten bisher untersuchten Arten.

Bereits MIESCHER (1843) wies auf das Vorkommen von zwei verschiedenen Arten von Parasitenstadien innerhalb der Zysten hin. In einer amorphen Grundsubstanz, hervorgegangen aus Kern und Zytoplasma der degenerierten Wirtszelle (SCHOLTYSECK, MEHLHORN und MÜLLER, 1974), liegen runde vermehrungsfähige Metrozyten sowie Zystenmerozoiten (= Zystozoiten = Bradyzoiten). Je nach Alter sind die Zysten durchzogen von sehr feinen Septen und lassen so kleine und größere Kammern entstehen, in denen eingebettet in Grundsubstanz die Metrozyten bzw. Zystozoiten liegen.

Nach GÖBEL, KATZ und ERBER (1978) handelt es sich bei den ersten Gebilden, die in der jungen Zyste von *Sarcocystis suicanis* gefunden werden, um Metrozyten oder Mutterzellen. Sie füllen anfangs den ganzen von der Primärhülle umgebenen Raum aus, gehen später zahlenmäßig stark zurück und finden sich dann bei alten Zysten nur noch am Zysten-

rand.Übereinstimmend mit anderen Autoren wird die äußere Begrenzung dieser ovoiden Zellen als eine aus drei Elementarmembranen bestehende Pellikula geschildert.Die beiden inneren Membranen liegen dabei so eng beieinander, daß sie als eine Schicht erscheinen.

Sarcocystis tenella (MEHLHORN und SCHOLTYSECK, 1973) sowie *Sarcocystis* sp. aus *Rattus fuscipes* (RZEPczyk und SCHOLTYSECK, 1976) weisen zahlreiche tiefe Einfaltungen an der Pellikula der Metrozyten auf; deshalb können diese Arten gut von *Sarcocystis fusiformis* (Endwirt Mensch) (HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH, 1975) unterschieden werden. Bei diesem Parasiten sind nämlich ähnlich wie bei *Sarcocystis equicani* (GÖBEL und ROMMEL, 1980) nur gelegentliche oder keine Einstülpungen festzustellen. In der Arbeit über *Sarcocystis equicani* wird weiter ausgeführt, daß im Metrozyten weder ein Zytostom noch Strukturen zu erkennen sind, welche einen hinteren oder vorderen Polring bilden. Mitochondrien vom tubulären Typ waren immer vorhanden, während Mikronemen und Rhoptrien nur vereinzelt und auch nicht bei allen Spezies beschrieben wurden. Der ovoide bis runde Zellkern beansprucht einen großen Teil des Metrozyten. Er wird von einer typischen Kernmembran begrenzt. Das Kernchromatin zeigt diffuse Verdichtungsbezirke in der Peripherie.

Die charakteristische Parasitenvermehrung innerhalb der Metrozyten ist die lichtmikroskopisch erstmals von GOLDMANN, CARVER und SULZER (1958) an *Toxoplasma gondii* beschriebene innere Sprossung oder Endodyogenie. Es werden dabei in einer Mutterzelle zwei Tochterzellen gebildet. SCHOLTYSECK (1973), RZEPczyk und SCHOLTYSECK (1976), GÖBEL, KATZ und ERBER (1978) und andere haben über derartige Vermehrungsstadien berichtet. GÖBEL und ROMMEL (1980) sehen die teilungsaktiven Metrozyten von *Sarcocystis equicani* durch unter der Pellikula angeordnete Mikronemen sowie

rhoptrienähnliche Strukturen gekennzeichnet. Daneben befinden sich im Zytoplasma wahllos verteilte Ribosomen, endoplasmatisches Retikulum und elektronendichte Polysaccharidgrana. Das Initialstadium der Endodyogenie ist die Bildung einer Anlage für jede Tochterzelle, in welche der sich teilende Kern hineingezogen wird. Im Laufe der Fortpflanzung differenzieren sich alle Organellen neu heraus oder gehen von der Mutterzelle in die Tochterzellen über. Anfangs runden sich die neugebildeten Tochterzellen ab, es entstehen wieder Metrozyten; später unterbleibt dies, sodaß bananenförmige Zystozoiten entstehen. MEHLHORN und Mitarb. (1975) haben während der Endodyogenie von *Sarcocystis tenella* die Genese der Rhoptrien und Mikronemen beobachtet. Danach entstehen die Mikronemen aus zwei Vakuolen mit granulärem Inhalt, an deren Peripherie sich zahlreiche kleine Vesikel abschnüren. Die Rhoptrien bilden sich bei der Aufteilung von Vakuolen heraus, nachdem sich deren granulärer Inhalt genügend verdichtet hat.

Nach MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH (1975b) stellen sich Zystozoiten von *Sarcocystis fusiformis* (Endwirt Hund) als bananenförmige Individuen dar, die von einer typischen dreischichtigen Pellikula umgeben sind. Dies wurde auch bei der Gefrierätzpräparation von PORCHERT und TORPIER (1977) an *Sarcocystis tenella*-Zystozoiten deutlich. Die Autoren fanden außerdem auf der äußeren Elementarmembran eine wahllose Verteilung von intramembranären Proteinpartikeln vor.

Untersuchungen an *Sarcocystis fusiformis* (Endwirt Mensch) von HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH (1975) lassen eine deutliche Dreiteilung der Zystozoiten erkennen. Im vorderen Zelldrittel liegen Mikronemen, Polring mit Gonoid sowie einmündende Ausführungsgänge der keulenförmigen Rhoptrien und stets ein Zytostom. Im mittleren Abschnitt befinden sich Ribosomen, Polysaccharidgranula, endoplasmatisches

Retikulum, Mitochondrien vom Tubulus Typ und Rhoptrien. Im letzten Drittel schließlich sieht man neben dem Zellkern noch den Golgi Apparat.

HAESE, MEHLHORN und PETERS (1977) berichten ebenfalls von der dreischichtigen Pellikula bei *Sarcocystis ovifelis*, wobei die äußere Membran den Parasiten vollständig umgibt, während die beiden inneren am vorderen und hinteren Pol sowie an der Mikropore unterbrochen sind. Der innere Membrankomplex wird als ein maschenähnliches Muster beschrieben. PORCHERT und TORPIER (1977) weisen mit Hilfe der Gefrierätzung nach, daß dieser Komplex sich bei *Sarcocystis tenella*-Zystozoiten aus rechteckigen, glatten und in Reihe stehenden Plättchen aufbaut, wobei sie 11 solcher Reihen zählen. Er ist eingepaßt in eine apikal abgestumpfte Conoidhaube. In der P-Fläche der äußeren Membran findet sich eine Apikalrosette mit 8 Knötchen um ein neuntes herum angeordnet. Die parallele Anordnung der Partikel in der P-Fläche, auch bei Eimerien von DUBREMETZ und TORPIER (1977) gefunden, setzt sich fort in Doppelreihen, die in die Apikalkappe ausstrahlen und mit den darunter liegenden subpellikulären Mikrotubuli korrespondieren.

Wie GÖBEL, KATZ und ERBER (1978) in ihrer Publikation über *Sarcocystis suicanis* ausführen, ziehen die 22 subpellikulären Mikrotubuli, charakteristisch für zystenbildende Kokzidien, vom vorderen Polring, der ebenso wie der hintere von den beiden versteiften Enden der inneren Membranen gebildet wird, in spiralförmigen Windungen zum hinteren Pol. Auch für *Sarcocystis suicanis* lassen sich die typische Dreiteilung der Zystozoiten sowie die aus drei Schichten bestehende Pellikula, die zwischen der äußeren und den beiden inneren Membranen einen 13 μ m breiten Spalt freiläßt, feststellen. Eine oder mehrere Mikroporen werden von der äußeren Membran gebildet, ausgekleidet und seitlich

durch die beiden innern Membranen verstärkt. Vom vorderen Polring umschlossen liegt das Conoid, das von spiraligen Ringen gebildet wird. Die verschiedenen Betrachtungsweisen auf das Conoid und der Verlauf der conoidalen Ringe lassen die Autoren vermuten, daß die Ringe um so steiler angeordnet sind, je stärker das Conoid ausgestülpt ist. Am 81. Tag p.i. wurde eine abgestorbene Zyste beobachtet, in der die Zystozoitien von einer mehrfach unterbrochenen Pelli-
kula umgeben und mit homogen lipidgefüllten Vakuolen angefüllt sind.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methoden

Als Infektionsmaterial dienten uns Sporozystenauflschwemmungen von *Sarcocystis dispersa* aus Schleiereulenkot. Die Eulen waren mit Schwarzmäusen aus institutseigener Zucht gefüttert worden, in deren Muskulatur sich infektionstüchtige Zysten befanden.

Als Versuchstiere wurden Schwarzmäuse sowie weiße Mäuse aus institutseigener Zucht verwendet. Die Tiere waren bei Versuchsbeginn 4 Wochen von der Mutter abgesetzt. Sie wurden mit handelsüblichem Mäusefutter (Altromin) ad libitum gefüttert und in Makrolonkäfigen bei Sägemehleinstreugehalten. Frisches Wasser stand stets zur Verfügung.

Die orale Infektion der Mäuse erfolgte mittels Knopfkanüle, wobei von einem Inokulationsvolumen von 0,25-0,3 ml ausgegangen wurde. Für die Untersuchung der Schizogoniestadien wurden Dosen von 300 000 Sporozysten/ml (45 Tiere), zur Gewinnung der Zysten von 3000 Sporozysten/ml (20 Tiere) gewählt. Bei Versuchsbeginn wurden jeweils eine Maus auf Parasitenfreiheit untersucht.

Um die verschiedenen Entwicklungsstadien genau studieren zu können, wurden für die Schizogonie vom 2.-20. Tag p.i. täglich je ein Tier getötet; zwischen dem 4. und 8. Tag p.i. verkürzten wir den Abstand auf 4 Stunden. Tupfpräparate wurden von Gehirn, Lunge, Leber, Milz und Niere hergestellt, nach Giemsa gefärbt und im Lichtmikroskop untersucht. Zur Untersuchung der Zystenentwicklung tötete ich je eine Maus am 10., 12., 15., 18., 20., 25., 29., 41., 64., 79., 106., 142., 171., 240. Tag p.i.. Die von Bauch-, Oberschenkel- und Herzmuskulatur entnommenen Proben wurden mit Hilfe

einer Skalpellklinge geschabt, damit die Zysten aus der Muskulatur freigesetzt und das Gemisch aus Zysten, Zystenbruchstücken und Zystozoiten nativ im Lichtmikroskop untersucht.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden zwei Präparationsverfahren gewählt, wobei nur die lichtmikroskopisch positiven Proben von Leber und Muskulatur Verwendung fanden.

Einbettung und Ultradünnschnitt. Für die Fixierung wählte ich bei der Hälfte der Proben 6,6% Glutaraldehyd in Phosphatpuffer (A), bei der zweiten Hälfte ein Gemisch aus Glutaraldehyd und Formaldehyd (1:1) in 0,1M Cacodylatpuffer (B). Die Proben wurden nach 20 Minuten aus dem Fixiermedium genommen und auf eine Kantenlänge von 1mm geschnitten. Nach einer Fixierzeit von insgesamt einer Stunde wurden sie mindestens 4x in Rewcastle- bzw. Cacodylatpuffer gewaschen. Die Nachfixierung erfolgte bei Gruppe A mit 1%igem Osmiumtetroxid, gelöst in Veronalazetatpuffer, bei Gruppe B mit 1%igem Osmiumtetroxid, gelöst in 0,1M Cacodylatpuffer jeweils bei 4°C. In der aufsteigenden Alkoholreihe wurde das Material dehydriert, zunächst mit 50% Alkohol 15 Minuten, anschließend mit 70% Alkohol über Nacht; hier wurde gleichzeitig mit 1%igem Uranylazetat zwischenkontrastiert. Danach wirkten 90% Alkohol 30 Minuten lang und absoluter Alkohol 3x 20 Minuten lang ein. Als Einbettungsmittel dienten zunächst 1 Teil Durcupan und 1 Teil Propylenoxid über Nacht jeweils bei Zimmertemperatur und am Schluß reines Durcupan für 1 Stunde bei 50°C. Die Untersuchungsproben wurden in Gelatine kapseln verbracht, wo sie bei einer Temperatur von 60°C im Brutschrank innerhalb von 48 Stunden polymerisierten.

Auf einem Porter Blum Mikrotom MTT wurden 1-2 μ m starke Semidünnschnitte hergestellt und mit Methylenblau-AzurII gefärbt. Ultradünnschnitte von 50 nm Dicke erstellte ich mit einem Ultratom III(LKB) und übertrug sie auf formvar-befilmte Kupfernetze, um sie anschließend mit Uranylazetat und Bleizitrat in wässriger Lösung nachzukontrastieren.

Gefrierätzung. Zunächst wurden die Zysten und Zystozoen mit Hilfe einer Skalpellklinge in einer Petrischale, die etwas mit physiologischer NaCl-Lösung gefüllt war, aus den Muskelproben unter Verwendung der Stereolupe herausgeschabt. Nach Entfernung grober Muskelstückchen und mehrmaligem Sedimentieren bzw. Zentrifugieren erhielt ich eine Suspension aus Zysten, Zystenbruchstücken und Zystozoen. Von diesem Gemisch fixierte ich bei Zimmertemperatur für 15 Minuten einen Teil mit 1%igem Glutaraldehyd in Rewcastlepuffer, den anderen in einem Gemisch aus 1%igem Glutaraldehyd und 1%igem Formaldehyd in Cacodylatpuffer. Nach gründlichem Auswaschen mit Rewcastle- bzw. Cacodylatpuffer wurden die Proben in 10%-, 20%-, 30%- Glycerinlösung stufenweise verbracht und dort für 30 Minuten belassen, um anschließend nochmals zentrifugiert zu werden. Die Glycerinlösungen dienten als Gefrierschutzmittel. Mit Hilfe geeigneter Instrumente wurde Probenmaterial auf ein Präparatträgerplättchen aus Gold-Nickel-Legierung verbracht, dessen Boden vorher angefeuchtet worden ist. Das Einfrieren erfolgte in einem Dewar-Gefäß in flüssigem Freon 22 für 5 Sekunden. Anschließend legte ich die Plättchen rasch in flüssigen Stickstoff (-196°C), wo sie bis zur eigentlichen Gefrierätzung unbegrenzt lagerfähig waren.

Für die Gefrierätzung verwendete ich eine Anlage der Firma Balzers BAF 300. Das Präparat wurde auf den bis auf -150°C vorgekühlten Objektisch verbracht und bei -100°C unter

einem Vakuum von $1-2 \times 10^{-6}$ Torr geschnitten. Das feine Messer war ebenso wie der Messerarm vorher auf -190°C vorgekühlt worden. Nachdem die Schnittfläche geeignet glatt war, begann der Ätzzvorgang, d.h. eine Sublimation des Eises in der angeschnittenen Oberfläche durch ein künstlich erzeugtes Temperaturgefälle. Die Ätzzeit betrug 60-90 Sekunden. Um einen stabilen Abdruck herzubekommen, wurde zweimal bedampft, zuerst in einem Winkel von 38° mit Platin-Kohle, anschließend sofort mit reiner Kohle in einem Winkel von 90° . Nach Aufheizung des Gerätes nahm ich die Probe mit dem Trägerplättchen heraus und verbrachte sie nach kurzem Auftauen auf der Handinnenfläche in 0,25% Trypsinlösung. Nach durchschnittlich 1-3 Stunden wurde die Trypsinlösung durch Aqua dest. ersetzt, welches mehrmals gewechselt wurde. Individuell verschieden, je nach Zustand des Abdruckes, gab ich dann 1,4% Eau de Javelle-Lösung tropfenweise dazu; gleichzeitig wurden einige Tropfen des so entstandenen Gemisches abgezogen, wodurch sich die Konzentration des Eau de Javellegemisches allmählich erhöhte. Anschließend verbrachte ich den Abdruck wieder in reines Aqua dest.. Abdrücke, die in sich oder auch nur teilweise am Rand aufgewickelt waren, wurden schließlich noch mit einem Gemisch aus Chloroform und Methanol im Verhältnis 1:1 im Wechsel mit Aqua dest. behandelt. Nachdem alles biologische Material entfernt war, wurde der Abdruck auf formvarbefilmte Objektträgernetze aufgezogen.

Die elektronenmikroskopische Auswertung erfolgte mit einem Elmiskop 101 von Siemens, die lichtmikroskopische wurde mit einem Leitz-Photomikroskop durchgeführt.

B. Ergebnisse

1. Lichtmikroskopische Untersuchungen

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Organe ergab nur in der Leber einen Schizontenbefall. Die Schizogonie beschränkte sich dort zeitlich auf einen ganz kurzen Bereich. 116 Stunden nach der Infektion traten die ersten Schizonten auf. Die intensivste Phase der ungeschlechtlichen Vermehrung ist zwischen der 132. und der 144. Stunde p.i.. Danach finden wir nur noch in Ausnahmefällen Schizonten, stattdessen werden nun vermehrt Merozoiten, frei oder in phagozytiertem Zustand, beobachtet. Alle nach der 152. Stunde untersuchten Lebern waren frei von Parasiten.

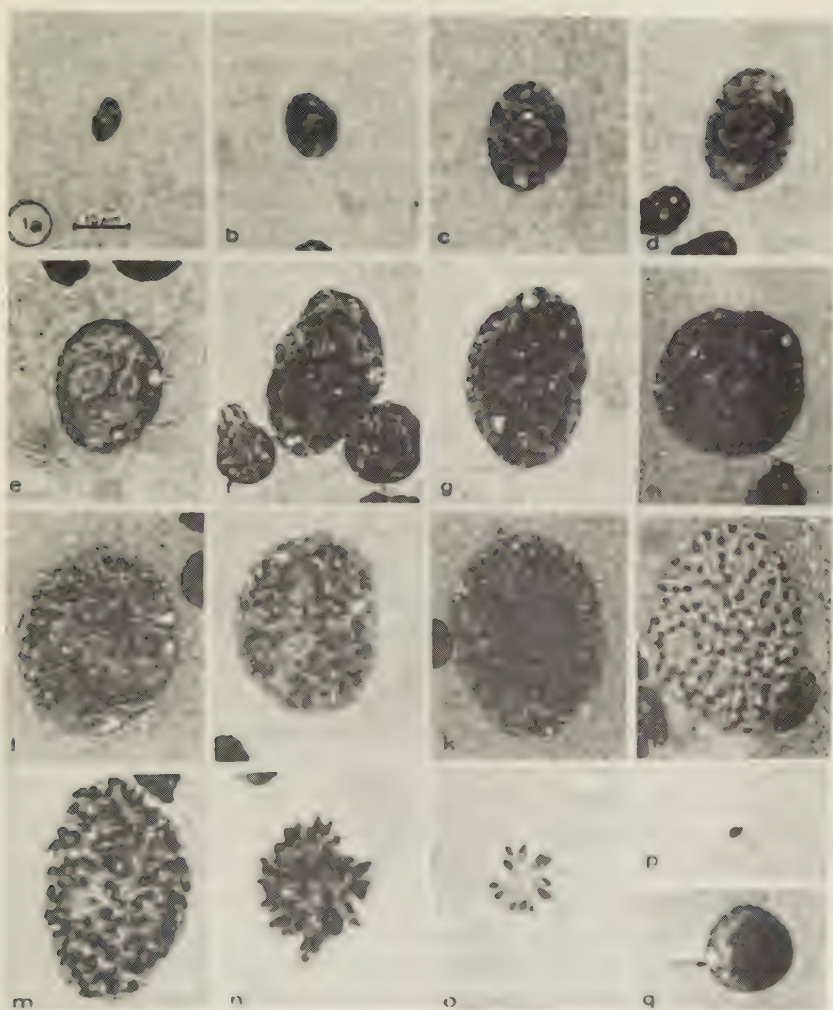
Auf Abb. 1 wird anhand von Giemsa gefärbten Tupfpräparaten der Leber dargestellt, wie die Entwicklung der Schizonten von der frühesten Form bis zur ganz reifen bzw. zu den fertig ausgebildeten Merozoiten außerhalb des Schizonten vonstatten geht. Dabei gab es zwischen weißen Mäusen und Schwarzmäusen keine nennenswerten Unterschiede im Befall. Die jüngste Schizontenform (Abb. 1a) hat eine Größe von $3,6 \times 7,7 \mu\text{m}$. Es handelt sich um ein ovoides Gebilde mit zwei zugespitzten Polen, ohne klare Zellmembran. Im giemsa-gefärbten Tupfpräparat ist das Zytoplasma an dem dem Kern weiter entfernten Zellpol deutlich dunkel angefärbt; der Zellkern scheint in seiner Struktur fließend in das umgebende Zytoplasma überzugehen. Er beansprucht in dieser frühen Phase etwa die Hälfte des Schizontenvolumens und ist näher einem Pol zugeordnet. In der Mitte des Nukleus liegt als runder dunkel rot gefärbter Bereich der Nukleolus, während in der Kernperipherie vereinzelt Chromatinanhäufungen zu sehen sind.

Mit der Größenzunahme ändert sich auch die Form des Parasiten zugunsten einer sphärisch bis ovoiden Gestalt mit stärker abgerundeten Polen. Bei späteren Schizontenstadien (Abb. 1b und c) ist der vergrößerte Kern mehr in das Zentrum der Zelle gerückt; es tauchen an den Polen erstmals runde helle Vakuolen mit einem Durchmesser von 0,7-0,9 μ m auf. Auch im Karyoplasma sind runde helle Bezirke entlang der Chromatinanhäufungen aufgereiht.

Die Heranreifung des Schizonten wird morphologisch durch Änderung der Kernform (Abb. 1d) verdeutlicht. Wir finden zwei ovale Kernbezirke, die sich mit ihrer länglichen Seite berühren und dabei ineinander überzugehen scheinen. Sie sind ganz eindeutig noch verbunden, obwohl sich bei oberflächlicher Betrachtung der Eindruck eines 2-Kernstadiums aufdrängt. Im weiteren kann der Kern (Abb. 1f) als ein aus vielen Ringen zusammengesetztes Gebilde beschrieben

Abb. 1: Schizontenstadien von *Sarcocystis dispersa*
in der Leber; Tupfpräparate, Giemsa-Färbung

- a: Jüngste Form 116h p.i.
- b-c: Größenzunahme des Schizonten unter gleichzeitiger Abkuglung
- d-h: Zunehmende Vergrößerung des Kerns unter Ausbildung von Kernsegmenten
- i-k: Kernteilungen
- l-m: Beginnende Merozoitendifferenzierung 132-144h p.i.
- n-o: Anordnung der Merozoiten in einer kortikalen Zone des Schizonten (Rosettenform)
- p: Freie Formen 144h p.i.
- q: Merozoit in phagozytiertem Zustand



werden. Die Vakuolen haben sich nun zu Paketen an der Peripherie des grieselig erscheinenden Zytoplasmas angeordnet. Schließlich erscheint der Kern als ein vielgelapptes Riesengebilde mit zahlreichen Ausbuchtungen; er füllt nahezu das ganze Zellvolumen aus und drängt das übrigbleibende Zytoplasma an den Rand (Abb. 1g-i). Dabei wird die parasitierte Leberparenchymzelle vergrößert und ihr Kern von dem im Zytoplasma gelegenen Parasiten an den Rand gedrückt.

Merozoitenähnliche Strukturen im $38,1 \times 28,1 \mu\text{m}$ großen Schizonten werden ab der 128. Stunde p.i. deutlich erkennbar (Abb. 1k-m). Durch weitere Abgrenzung sind die Merozoiten gut sichtbar, füllen (Abb. 1l und m) den ganzen Schizonten aus und ordnen sich überwiegend in einer kortikalen Zone an. Reife Schizonten enthalten mindestens 80-120 Merozoiten und haben eine typische Rosetten- bzw. Blümchenform (Abb 1o).

Die Merozoiten sind $5-7,4 \times 2-2,2 \mu\text{m}$ groß, haben einen dunkelroten Innenraum und sind zentrifugal zur Peripherie des Schizonten gelegen. Ab dem 6. Tag werden sie frei und sind von bananenförmigem plumpem Aussehen (Abb. 1p). In dem tiefblauen Zytoplasma ist der ovale Kern etwas dem einen Zellpol zugewandt; er nimmt ca ein Drittel des Zellvolumens in Anspruch und stellt sich dar als eine Ansammlung von leicht geschlängelten Linien, die durcheinander liegen und sich der Kernbegrenzung anpassen. Auffällig im Tupfpräparat ist der helle Hof, der den Merozoiten vollständig umgibt. Teilweise werden Merozoiten von Makrophagen phagozytiert (Abb. 1q). Der Parasit liegt mit seiner konvexen Seite direkt der Außenmembran des Phagozyten an; vereinzelt treten auch Phagozyten mit zwei Merozoiten auf.

Die ersten Muskelzysten haben wir 15 Tage p.i. in der Muskulatur der Bauchwand gefunden. Sie liegen ausnahmslos intrazellulär in Längsrichtung der Myofibrillen. In absteigender Häufigkeit kommen sie in Bauchwand und Oberschenkel vor. Zwischen dem 15. und 29. Tag p.i. sind keine morphologischen Unterschiede an der Zyste zu verzeichnen, abgesehen vom Größenwachstum ($18 \times 150 \mu\text{m}$ bzw. $38 \times 295 \mu\text{m}$). Sie sind längsovale Gebilde, haben einen stumpfen und einen spitzen Pol und sind umgeben von einer dünnen Wand. Im Zysteninneren liegen runde bis ovoide $3 \times 4 \mu\text{m}$ große Metrozyten. Diese weisen ein schaumiges Zytoplasma auf und haben einen dunklen Kern, der ein Drittel der Zelle ausfüllt. Ab dem 29. Tag p.i. treten vereinzelt im Zentrum Zystozoitenauf, die durch ihre längsovale, leicht gebogene Gestalt gekennzeichnet sind. Um den 64. Tag p.i. waren sehr viele Skelettmuskelfasern unserer Versuchsmäuse mit Zysten befallen; es handelt sich um milchig weiße, etwa 2-3 mm lange Streifen. Ab dem 64. Tag p.i. ziehen deutliche Septen in das Zysteninnere und lassen eine bienenwabenähnliche Struktur entstehen. Die Zahl der in diesen Kammern zusammengepackten Zysten bewegt sich zwischen 10 und 15. Die Zystozoitena haben eine Größe von $7,8 \times 3 \mu\text{m}$, ihr runder Kern liegt im hinteren Zelldrittel. Im Nativpräparat war eine schraubend gleitende Fortbewegung der Zystozoitena deutlich zu beobachten.

Die reife Zyste ist von einer Zystenwand umgeben, die kleine flacher oder steiler stehende Einstülpungen zeigt. Sie verleihen der Zystenwand ein zahnradähnliches Aussehen. Zwischen Zystenwand und den in Septen eingeschlossenen Zystozoitena liegt ein $0,6-1 \mu\text{m}$ breiter, mit Zystengrundsubstanz angefüllter Raum. Obwohl bereits ab dem 29. Tag p.i. der Anteil der Metrozyten stark zurückgeht, fanden wir selbst 240 Tage p.i. noch vereinzelt in der Peripherie diese Mutterzellen.

2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Die jüngsten Schizonten von *Sarcocystis dispersa* liegen frei in Leberparenchymzellen; es fehlt ihnen die umgebende parasitophore Vakuole. Allerdings ist das Wirtsgewebe um sie herum durch eine Verdichtungszone aus Mitochondrien des Wirtes, die mit zunehmender Reife stärker ausgebildet wird, gekennzeichnet (Abb. 2 und 6, MIH).

Der Parasit selbst wird von einer Pellikula (PE) umgeben, die aus zwei Membranblättern besteht (Abb. 7, IM, OM). Die äußere Membran (OM) besteht ihrerseits aus zwei Schichten, wodurch sie insgesamt dicker als die innere ist. Zur Wirtszelle hin ist der äußeren Schicht eine dicke Ribosomenauflagerung beigegeben (Abb. 7, RI). Die innere Schicht der äußeren Membran zeigt einen spikeartigen Partikelbesatz zum intermembranären Spalt hin. Dieser Spalt hat eine Breite von 0,012-0,2 μm . Die innere Membran (IM) ist oft unklar gestaltet und an einigen Stellen lückenhaft. Sie läuft nicht immer parallel zur äußeren Membran, sondern ist oftmals bis zu 0,04 μm nach innen zum Parasiten hin ausgebuchtet; sie besteht nur aus einer Schicht.

Der Kern des Schizonten, der etwa ein Drittel des Zellvolumens beansprucht und zentral gelegen ist, hat in diesem frühen Stadium ebenso wie der Schizont selbst ovoide bis runde Gestalt. Er ist angefüllt mit homogenem Material, in dem wahllos Chromatinanhäufungen verteilt sind. Der Nukleolus, der ca ein Zehntel der Kerngröße einnimmt, ist deutlich zu sehen und zeigt dichte, feste Struktur. In die Grundsubstanz des Schizonten sind außerdem noch zahlreiche Mitochondrien vom Tubulus-Typ eingelagert, sowie ein aus doppelten Membranen aufgebautes Labyrinth von Gängen und Röhren, das endoplasmatische Retikulum mit Ribosomenbesatz.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

A	:	Tochterzellanlage
B	:	Bläschenförmige Einstülpungen der Primärhülle
C	:	Conoid
CE	:	Centriole
CH	:	Kernchromatin
CW	:	Zystenwand
DR	:	Ausführungsgänge der Rhoptrien
E	:	Einfaltungen in der Pellikula der Metrozyten
ER	:	Endoplasmatisches Retikulum
GS	:	Zystengrundsubstanz
IM	:	Innere Membran des Schizonten bzw. innerer Membrankomplex des Zystozoiten
L	:	Lipidhaltige Vakuole
MC	:	Metrozyt
ME	:	Merozoit
MF	:	Myofibrillen
MI	:	Mitochondrium
MIH	:	Wirtsmitochondrium
MN	:	Mikronemen
MO	:	Multimembranäres Organell
N ₍₁₊₂₎	:	Nukleus (Tochternuklei)
NF	:	Kernspindel
NP	:	Kernporen
NU	:	Nukleolus
OM	:	Äußere Membran des Schizonten bzw. Zystozoiten
P1+2	:	Vordere Polringe 1 und 2
PE	:	Pellikula der Metrozyten und Zystozoiten
Pe	:	P-Fläche der äußeren Membran
PG	:	Polysaccharidgrana
PH	:	Primärhülle
Pi	:	P-Fläche der inneren Membran
PP	:	Hinterer Polring

R1+2	:	Präconoidale Ringe 1 und 2
RH	:	Rhoptrien
RI	:	Ribosomen
SMT	:	Subpelliculäre Mikrotubuli
TZ	:	Tochterzellen
Z	:	Z-Streifen der Myofibrillen

Der Meßbalken auf den elektronenmikroskopischen Abbildungen entspricht 1 μm .

Mit zunehmender Schizontenreifung ist zunächst ein deutliches Wachstum festzustellen, das sich allerdings nicht in einer Größenzunahme des Parasiten erschöpft, sondern insbesondere eine Veränderung der Pellicula bedingt. Diese wird in zunehmendem Maße faltig. Außerdem werden Vorwölbungen ausgebildet, was im Schnitt an ein amöboides Aussehen erinnert (Abb. 2). In diesen Ausbuchtungen treten gehäuft Parasitenmitochondrien (MI) auf. Sie zeigen eine längsovale, oft etwas schrumpelige Form, werden von einer Doppelmembran umgeben und sind vom Tubulus-Typ mit einer durchschnittlichen Größe von 0,7 x 0,5 μm . Ihnen gegenüber auf der Wirtsseite der Pellicula haben sich als Reaktion des Wirtes die Mitochondrien des Lebergewebes, die vom Crista-Typ sind (Abb. 2 MIH), deutlich vermehrt und in die durch die Fältelung der Schizontenpellicula entstandenen Nischen eingepaßt.

Das zweite herausragende morphologische Merkmal bei der Schizontenreifung betrifft Kern- und Merozoiten-differenzierung. Die Kernmasse (N) nimmt zu und dehnt sich durch ins Zytoplasma vorspringende Vorwölbungen aus;

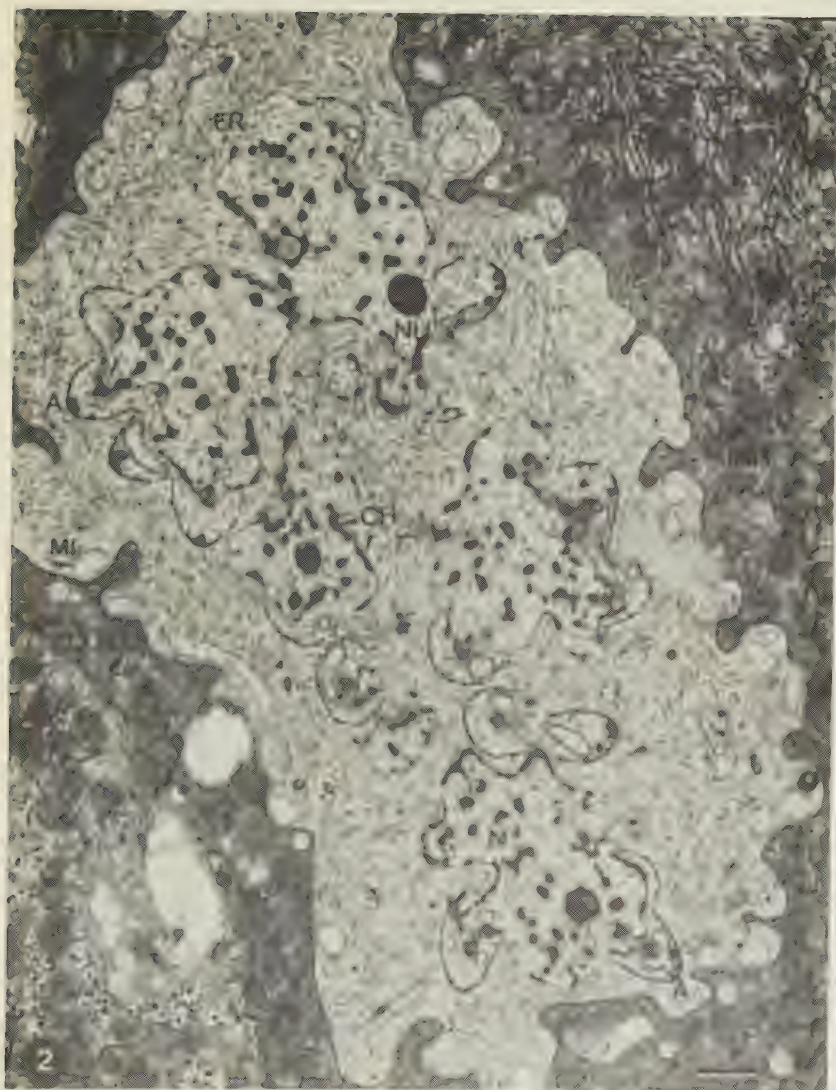


Abb. 2: Schizont von *Barcoocystis dispersa* in Keratinisationsphase

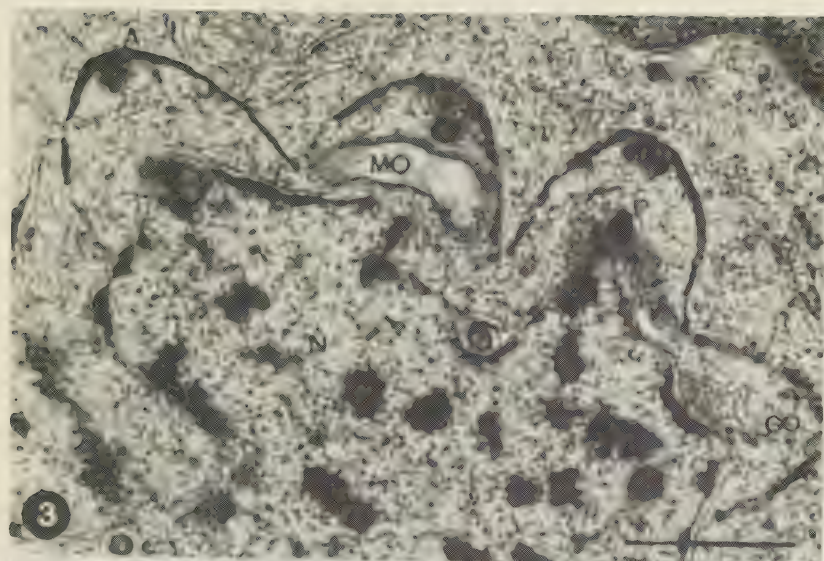
dies führt schließlich zu einem vielgelappten Riesengebilde (Abb. 2). Das Heterochromatin beginnt in Form von anfangs runden, später länglichen Anhäufungen hervorzutreten (Abb. 2 und 6, CH). In jedem Kernteil ist ein Nukleolus (NU) sichtbar. Der typische, aus einer doppelten Zytomembran bestehende Aufbau der Kernbegrenzung ist nicht an allen Stellen gut zu sehen.

Auf unseren Schnitten tauchen gleichzeitig mit den Vorsprüngen der Kerne an deren Spitzen Spindelapparate auf (Abb. 4 und 5, NF). Die Kernspindeln (NF), die einen Winkel von knapp 30° bestreichen, konnten sowohl im Längs- (Abb. 4) als auch im Querschnitt (Abb. 5) dargestellt werden. Auch eine Centriole tritt neben der Kernspindel auf (Abb. 4, CE). In der Nähe des Spindelapparates, der jeweils einen Kernteil dem Merozoiten einverleibt, sehen wir eine Verklumpung von osmiophilem Material. Über jedem Pol einer Kernspindel (NF) wird nun eine kappenartige Verdichtungszone aufgebaut. Die Spitzen dieser als Merozoitenanlage (A) bezeichneten Gebilde sind immer vom Kernvorsprung weg nach außen orientiert (Abb. 2, 3 und 4).

Abb. 3: Merozoitenanlagen (A) in einem Schizonten von *Sarcocystis dispersa*; Multimembranäres Organell (MO) zwischen Kern und Merozoitenanlage

Abb. 4: Längsschnitt durch eine Merozoitenanlage mit Kernspindel (NF) und Centriole (CE)

Abb. 5: Querschnitt durch die Kernspindel (NF); Multimembranäres Organell (MO) in Hufeisenform

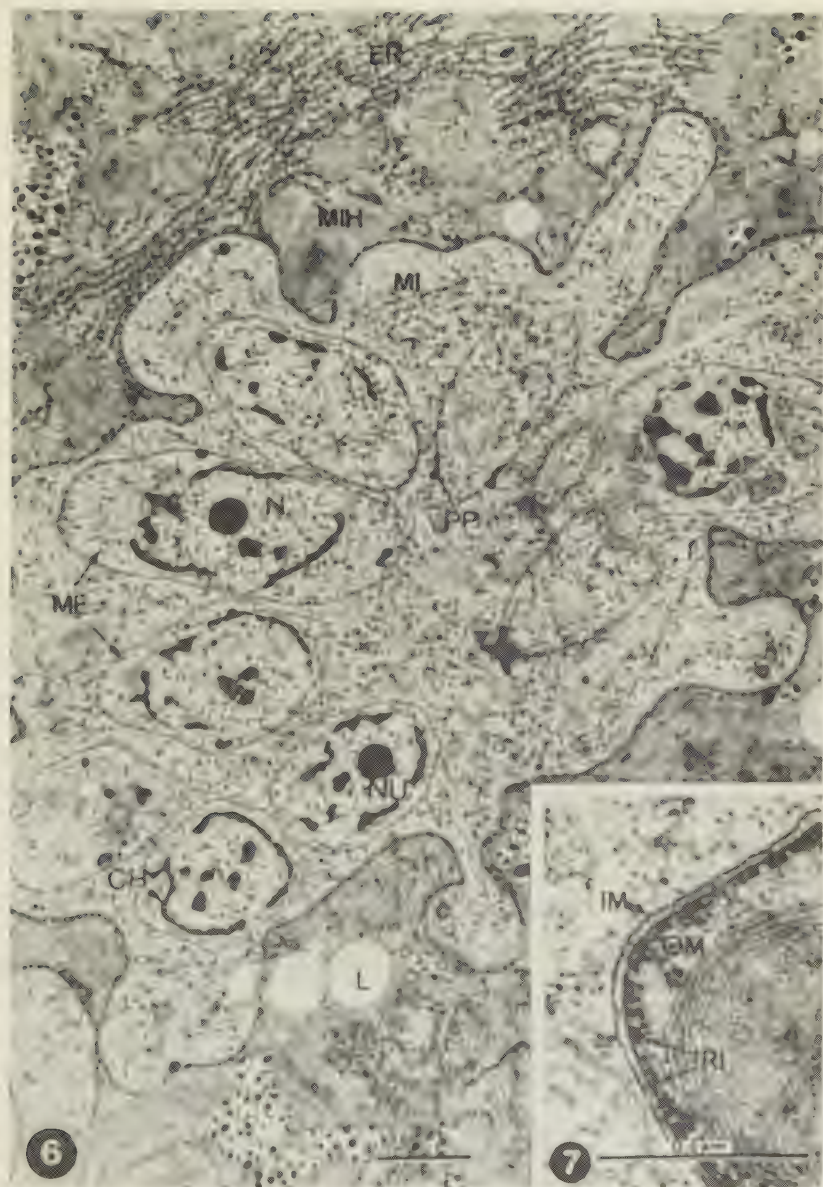


Die Merozoitenanlagen stellen gleichzeitig die beiden inneren Membranen der späteren Merozoitenpellikula dar. Es konnten maximal 18 Anlagen in einem Schnitt gezählt werden. Das deutlich verdichtete Kernchromatin hat sich inzwischen an die Peripherie hin verlagert, während der betreffende Kernteil wächst und in die Merozoitenanlage einwandert bzw. von dieser umgeben wird. Mit dem Auftreten der Merozoitenanlage differenzieren sich die ersten Organellen; es sind gelegentlich Polring (Abb. 6, PP) und conoidähnliche Strukturen zu sehen. Weiterhin werden manchmal Golgivesikel und vereinzelt auch Mikronemen angetroffen. Subpellikuläre Mikrotubuli und Rhoptrien haben wir während dieser Entwicklungsphase nicht feststellen können.

Zwischen Merozoitenanlage und Spindelapparat bzw. Kernmasse fällt ein je nach Anschnitt rundes, ovales, oder hufeisenförmiges Gebilde auf mit einem Durchmesser von 0,8-1,4 μm . Die Anzahl seiner Membranen läßt sich nicht exakt angeben, da diese leicht gewellt ineinander überzugehen scheinen. Wir bezeichnen dieses Gebilde als multi-membranäres Organell (Abb. 3 und 5, MO). Die elektronenlichte sich hell darstellende schaumige Innenstruktur erinnert bisweilen an Mitochondrien oder Golgi Apparat,

Abb. 6: Schizont von *Sarcocystis dispersa* während der Merozoitendifferenzierungsphase

Abb. 7: Aufbau der Schizontenpellikula mit dichtem Ribosomenbesatz (RI) auf der äußeren Membran



morphologisch läßt sich aber keine Verbindung mit diesen herstellen. Es soll noch festgehalten werden, daß dieses Zellorganell nur in diesem Reifestadium des Schizonten und an dieser ganz bestimmten Stelle auftaucht.

Während die Lappung der Schizontenpellikula immer ausgeprägter wird, wachsen die jungen Merozoiten fingerförmig zentrifugalwärts (Abb. 6). Die anfänglich nur eine Haube bildende Merozoitenpellikula verlängert sich nach unten, bleibt aber am hinteren Pol noch einige Zeit offen. Das gesamte Schizontenzytoplasma wird verbraucht; ein Restkörper bleibt nicht zurück.

Die Ausdifferenzierung der Merozoitenanlagen zu reifen Merozoiten läuft schnell ab. Die beiden Pellikulaenden am hinteren noch offenen Zellpol sind knopfartig verdickt (Abb. 6, PP). Schließlich wird der Merozoit auch hinten geschlossen und die Tochterzellen erhalten ihre äußerste Pellikulaschicht beim Auswandern aus der Mutterzelle bzw. bei deren Zugrundegehen. Die ausdifferenzierten Merozoiten liegen dicht gepackt in der Wirtszelle und weisen eine Größe von $4,2-6,3 \times 1,7-2 \mu\text{m}$ auf. Sie besitzen einen zentralen Kern sowie einen Apikalkomplex, bestehend aus Conoid eingepaßt in den vorderen Polring, Mikronemen und Rhoptrien. Außerdem treten Mitochondrien, Golgivesikel, endoplasmatisches Retikulum mit Ribosomenbesatz und zahlreiche frei vorliegende Ribosomen auf.

Die Zysten von Sarcocystis dispersa sind intrazellulär zwischen den Myofibrillen der Muskelfasern gelegen. Als Wirtszellreaktion registrierten wir mit zunehmendem Wachstum der Zysten eine Zunahme von Mitochondrien des Crista-Typs (Abb. 13, MIH).

Begrenzt wird die Zyste von einer Elementarmembran, die von homogenem osmiophilem Material unterlagert ist, und so eine typische Primärhülle bildet (Abb. 8-10, PH). Diese osmiophile Schicht zeigt unterschiedliche Dicke, maximal jedoch 50 nm, wodurch mancherorts der Eindruck von Durchlaßstellen entsteht. Die Primärhülle, welche die Muskelzyste vollständig umgibt, verändert ihr Aussehen mit zunehmender Reifung. So finden sich bei den jüngsten von uns entdeckten Zysten 15 Tage p.i. entlang der Hülle bläschenförmige Einziehungen (Abb. 8, B). Diese Formen, die bisweilen an einen hängenden Wassertropfen erinnern, sind 25-50 nm tief und breit und außerdem fast immer an ihrem Anfang mit einer Einziehung versehen. Sie sind weder in ihren Abmessungen einheitlich, noch wechseln sie sich streng in ihrer Anordnung ab. Dies führt zu einem unregelmäßigen zahnradähnlichen Aussehen, das aber trotzdem ein homogenes Gesamtbild ergibt. An der Basis der Primärhülle sind die Einziehungen oft quergeschnitten, weshalb wir sie dort als ovoide bis kreisrunde Gebilde wiederfinden.

Bei 18 Tage alten Muskelzysten registrierten wir ein deutliches Zystenwachstum. Die Primärhülle (Abb. 9, PH) vergrößerte ihre Oberfläche durch tief in das Zysteninnere vorstoßende Invaginationen (Abb. 8-10 und 13, Pfeile), die in sich ebenfalls bläschenartig ausgebuchtet sind. Stets sind nur kurze Bereiche der Zystenwand in dieser Form verändert. Die Invaginationen sind

sehr unterschiedlich in ihrer Breite von 0,1 - 0,75 μm . Die tiefsten von uns ermittelten Einziehungen finden sich bei einer 64 Tage alten Zyste mit über 4 μm . Die Bezirke, die zwischen den Invaginationen liegen und selbst nicht ausgebuchtet sind, haben eine Länge von 0,4 - 1,7 μm . Je tiefer die Invaginationen ins Zysteninnere reichen, desto häufiger bilden sie zusätzliche Seitenarme aus.

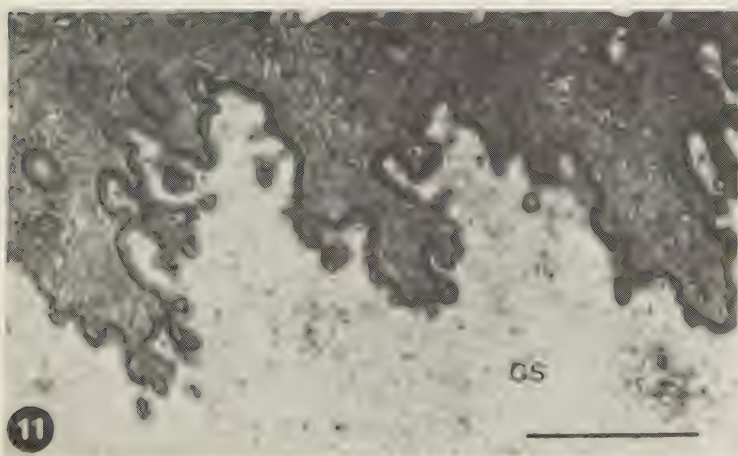
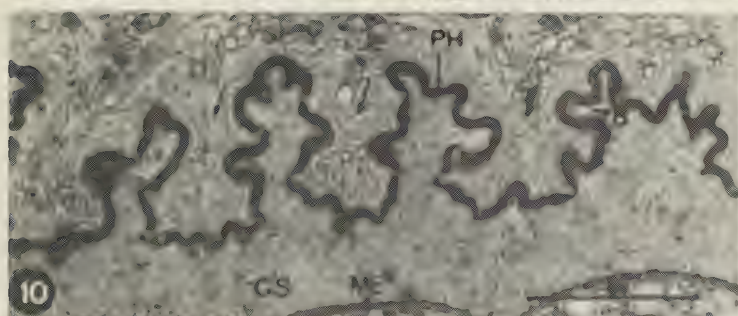
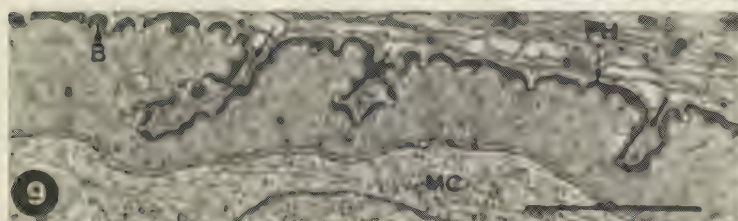
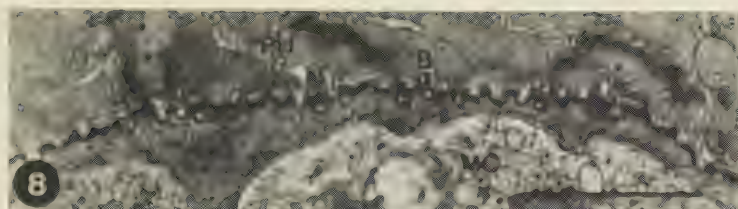
Ältere Zysten unterscheiden sich nicht in ihrer Wandstruktur, sondern nur in ihrer Größe von den jüngeren Formen. Ihre Breite beträgt am 18. Tag p.i. 18 μm , am 29. Tag p.i. 40 μm , am 64. Tag p.i. 77 μm , am 106. Tag p.i. 100 μm und am 240. Tag p.i. 112 μm . Trotz intensiver Untersuchungen wurden an keiner Stelle der Zystenwand Filamentbündel gefunden. Im Inneren der Zysten sind die Parasiten in Grundsubstanz eingelagert (Abb. 10-13, GS),

Abb. 8: Primärhülle (PH) mit bläschenförmigen Einstülpungen (B); 15. Tag p.i.

Abb. 9: Primärhülle (PH) bildet Invaginationen ins Zysteninnere (Pfeile); 18. Tag p.i.

Abb. 10: Vertiefung sowie Vermehrung der Invaginationen mit Dickenzunahme der osmiophilen Unterlagerung; 29. Tag p.i.

Abb. 11: Zystenwand einer degenerierten Zyste von *Sarcocystis dispersa* mit unregelmäßiger Auffaltung der Primärhülle (PH); 240. Tag p.i.



welche durch ungleiche Granulierung einen aufgelockerten Eindruck macht. Die Grundsubstanz bildet nicht nur einen 0,5 - 1,1 μm dicken Saum zwischen der Primärhülle und der Wand der Zoiten aus, sondern schiebt sich auch zwischen diese ein. Dies führt zu einer deutlichen Kammerung der Zysten.

In jungen Zysten finden sich nur Metrozyten; ab dem 29. Tag p.i. nimmt deren Anzahl jedoch rapide ab. Ganz verschwinden sie anscheinend auch bei den reifen Zysten nicht; denn sowohl am 171. Tag als auch am 240. Tag p.i. haben wir noch vereinzelt Metrozyten entdeckt.

Die langgestreckt ovoiden Metrozyten stellen sich im Querschnitt als pflastersteinähnliche Gebilde dar (Abb. 12 und 13, MC). Ihr Zellkörper beinhaltet weniger Ribosomen als die Zystozoiten, deshalb sind sie auch elektronenlichter. Ihre Länge am 15. Tag p.i. beträgt 4 - 6,5 μm , ihre Breite 2 - 3 μm . Sie werden begrenzt von einer aus drei Elementarmembranen bestehenden Pellikula (PE), die zahlreiche bis zu 2 μm lange Einfaltungen aufweist (Abb. 13, E). Die äußerste Schicht hat eine Stärke von 6 - 7 nm, die beiden inneren zusammen von 10 nm; sie heben sich nur undeutlich voneinander ab und werden daher als ein Komplex angesehen.

Der etwa ein Drittel des Zellvolumens beanspruchende Kern liegt meist in einer Zellhälfte (Abb. 12 und 13 N). Er hat ovoide Form, ist apikal etwas abgeflacht und erscheint im Querschnitt oft eingebuchtet. Die zweischichtige Kernmembran ist an wenigen Stellen gut zu erkennen. In der Regel ist ein runder sich dunkel darstellender Nukleolus (NU) angeschnitten, der randständig liegt. Das Kernchromatin ist diffus verteilt.

Neben wenigen Mikronemen (Abb. 16, MN), meist apikal gelegen, besitzt der teilungsaktive Metrozyt Mitochondrien vom Tubulus-Typ (MI), Golgivesikel, in Kernnähe selten Rhoptrien, Polysaccharidgrana und hier mit Ribosomen besetztes endoplasmatisches Retikulum. Dieses granuläre endoplasmatische Retikulum zeigt eine mitunter deutlich ausgeweitete Form (Abb. 12, ER). Mikroporen konnten nicht dargestellt werden.

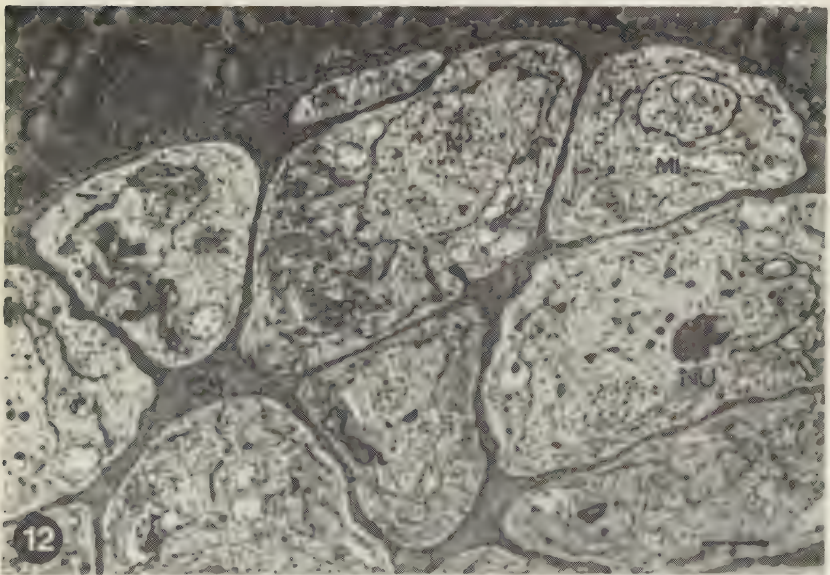


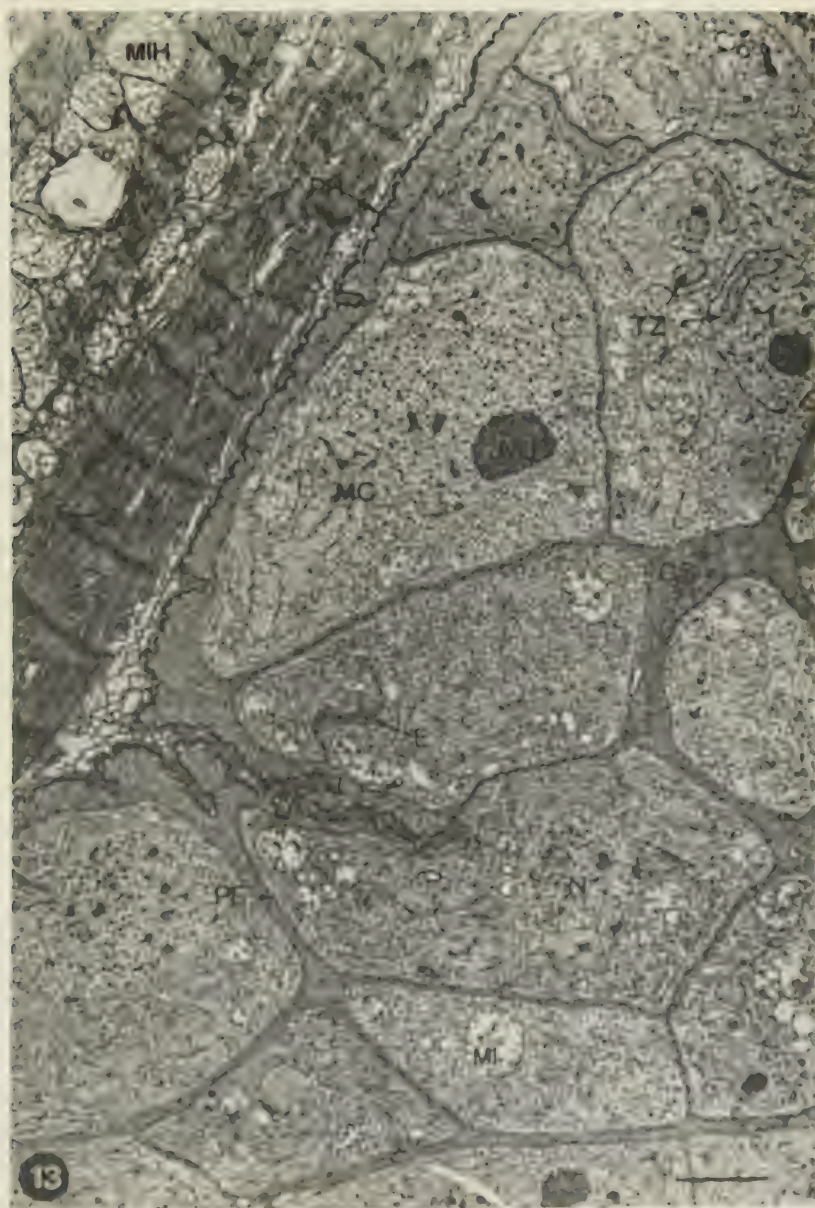
Abb. 12: Junge, von Primärhülle umgebene Zyste von *Sarcocystis dispersa*, angefüllt mit Metrozyten und Grundsubstanz; 15. Tag p.i.

Die ungeschlechtliche Vermehrung der Zystozoiten wird als Endodyogenie bezeichnet. Die ersten Veränderungen bei der Endodyogenie finden am Zellkern statt, der an Größe zunimmt. An seinem apikalen Pol wird ein Spindelapparat sichtbar, gleichzeitig bilden sich zwei Kernvorsprünge und über diesen je eine Tochterzellanlage (Abb. 15, A). Der Nukleus (N) nimmt allmählich eine hufeisenähnliche Gestalt an, wobei dessen zwei Schenkel (N_1 und N_2) auf die Tochterzellanlagen (TZ) gerichtet sind (Abb. 15). Es fällt auf, daß sich die randständigen Zonen des Kerns verdichten insbesondere an der Stelle, wo die beiden Schenkel ineinander übergehen.

Gleichzeitig tritt in jedem sich entwickelnden neuen Parasiten das bereits bei der Schizogonie beschriebene sogenannte multimembranäre Organell auf (Abb. 14 und 15). Es zeigt auch hier eine wechselnde äußere Form, ist aber mit granuliertem Inhalt angefüllt.

Die Tochterzellanlagen (TZ) verlängern sich immer mehr nach unten, sodaß eine tiefe Einbuchtung zwischen ihnen entsteht (Abb. 14). Während des ganzen Teilungsvorganges bleibt die typische Kernbegrenzung erhalten.

Abb. 13: Zyste von *Sarcocystis dispersa*, umgeben von tief in die Grundsubstanz eingefalteter Primärhülle (Pfeil); Pellikula zeigt tiefe Einfaltungen (E) ins Zytoplasma; oben rechts Endodyogenie, 18. Tagp.i.

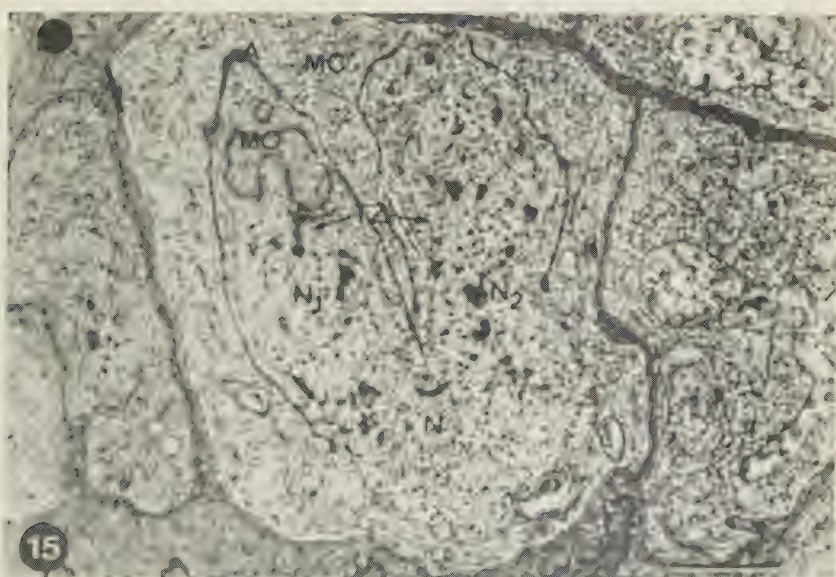
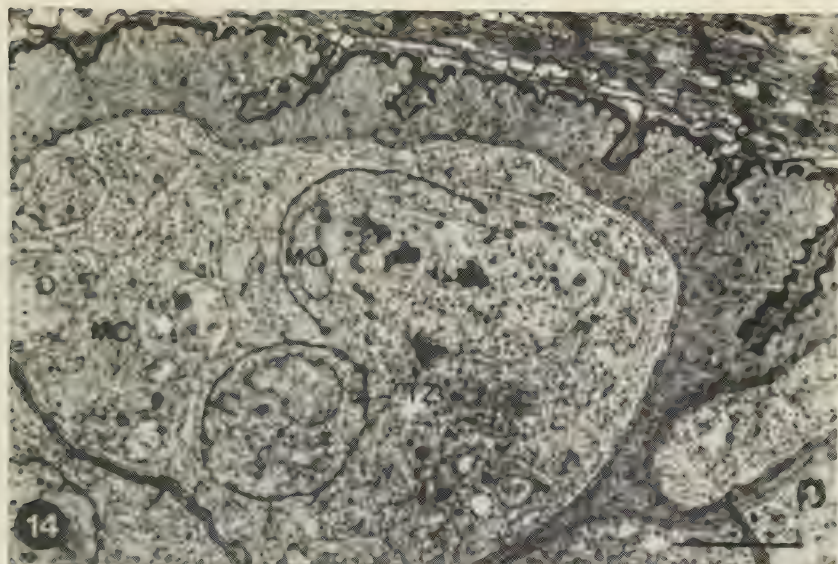


Im Apikalkomplex der jungen Zystozoiten werden Mikronemen, Rhoptrien und ein Conoid angetroffen. Im Verlauf der Differenzierung bilden sich alle Zellbestandteile entweder neu aus oder sie haben ihre Grundlage in der Mutterzelle. Der lange Zeit noch offene hintere Zellpol wird schließlich geschlossen und der neugeschaffene Parasit erhält seine äußere Membran vermutlich von der Metrozytenpellikula, die dabei aufgelöst wird.

Ab dem 29. Tag p.i. beobachteten wir im Zentrum der Zyste bereits einige Zystozoiten (Abb. 16, ME): Sie nehmen mit dem Reifungsprozeß zahlenmäßig stark zu, sodaß die Zyste ab dem 64. Tag p. i. beinahe ausschließlich Zystozoiten enthält. Die 4 - 6 μm langen und 2 - 3 μm breiten Parasiten (Abb. 16 - 18) sind von bananenförmiger Gestalt und werden von einer typischen dreischichtigen Kokzidienpellikula (PE) begrenzt. Die Stärke der äußeren Membran (OM) liegt bei 5 nm, während die beiden inneren Membranen (IM) zusammen etwa 12 nm dick sind (Abb. 18). Der Spalt zwischen der äußersten Membran und den beiden inneren beträgt 13 nm.

Abb. 14: Bildung zweier Tochterzellen (TZ) im Metrozyten; typische Lage des multimembranären Organells (MO) zwischen Zellkern und apikalem Pol; 29. Tag p.i. ,

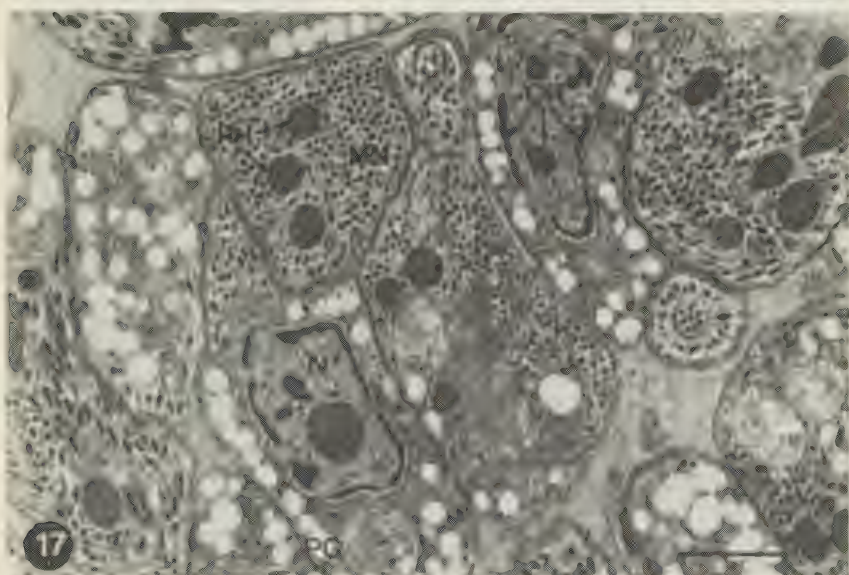
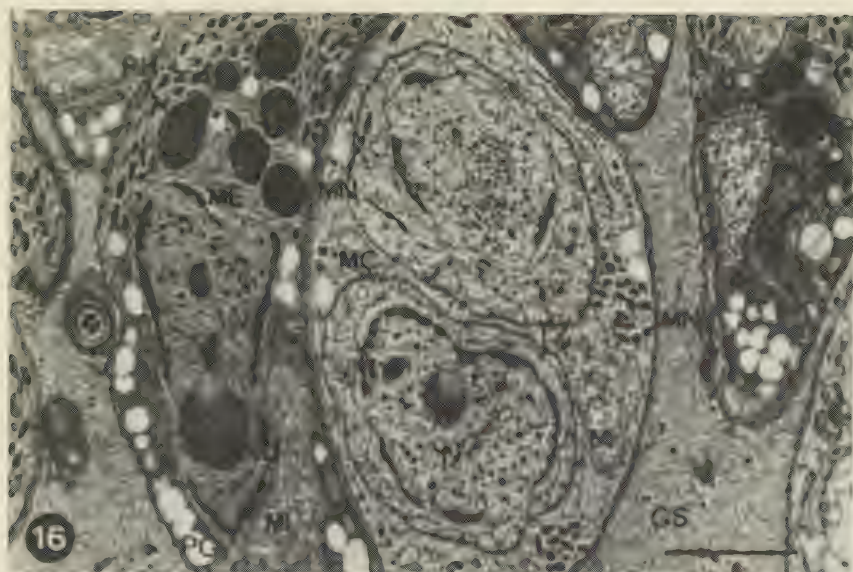
Abb. 15: Aufbau der Tochterzellkerne (N_1 und N_2) aus Kernsubstanz (N) des Metrozyten



Mit Hilfe der Gefrierätztechnik konnten zusätzliche Erkenntnisse über die Pellikulastrukturen der Zystozoiten gewonnen werden. Wir haben bei unseren Untersuchungen die Nomenklatur von BRANTON und Mitarb. (1975) verwendet. Darin betonen die Verfasser, daß man sich die nach Gefrierätzung sichtbaren Flächen nicht als äußere Membranansichten vorzustellen hat. Vielmehr werden die Membranen dabei aufgespalten. Als Ergebnis dieses Aufbruches erhält man zwei Hälften der Elementarmembran, eine dem Parasitenzytoplasma zugewandte (P) und eine korrespondierende E-Fläche. Je nachdem, ob eine konvexe oder konkave Abbildung vorliegt, ergeben sich für die äußere (e) und innere (i) Membran des Parasiten die Bezeichnungen Pe- bzw. Pi-Fläche für konvex sowie Ee- und Ei-Fläche für konkav. Umgekehrt liegt der Fall bei der mittleren Membran; da die P-Fläche auf einen schmalen Plasmasaum zwischen äußerer Membran und dem inneren Membrankomplex schaut, liegt sie der P-Fläche der äußeren Membran direkt gegenüber. Daraus resultieren bei konvexer Abbildung für die mittlere Membran die Bezeichnung Em und bei konkaver Abbildung Pm.

Abb. 16: Metrozyt von *Sarcocystis dispersa* mit zwei Tochtermerozoiten nach Endodyogenie; Mikronemen (MN) in beiden Zelltypen

Abb. 17: Zystozoiten von *Sarcocystis dispersa* mit zahlreichen Polysaccharidgrana (PG) in reifer Zyste

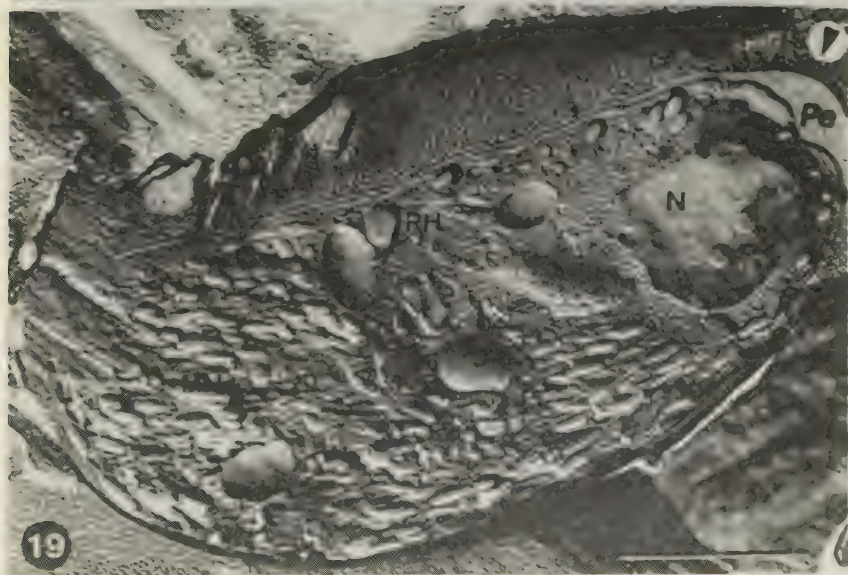
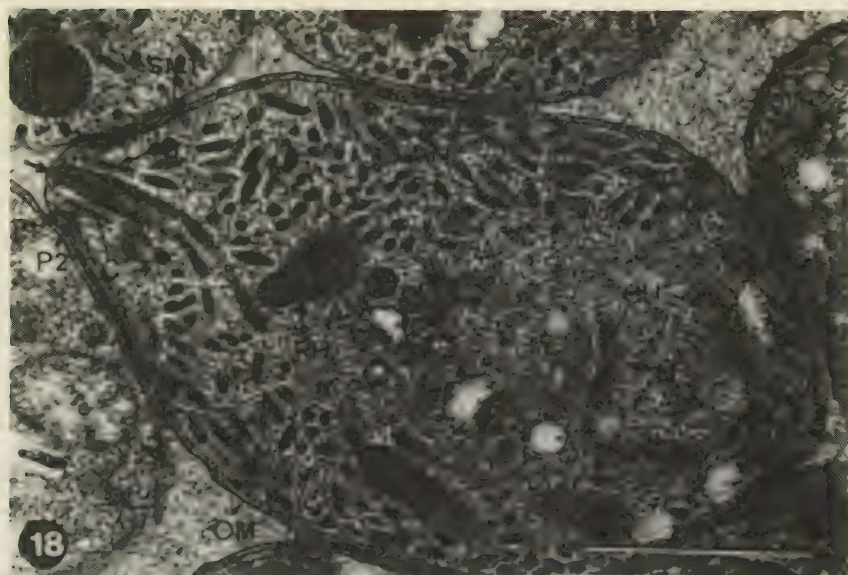


Die beiden dem Betrachter zugänglichen Schichten der äußeren Membran von *Sarcocystis dispersa*-Zystozoiten, Pe und Ee, sind durch eine zufällige Verteilung von 7-10 nm großen Partikeln gekennzeichnet (Abb. 19 und 20). Diese von BRANTON (1971) als Proteine nachgewiesenen Partikel werden intramembranäre Partikel (IMP) genannt. An einigen Stellen fällt auf, daß sich 5-6 solcher Partikel hintereinander in kurzen Reihen angeordnet haben. Auf der Ee-Fläche sind die intramembranären Partikel weniger dicht anzutreffen als auf Pe. Auf einigen Spaltflächen finden wir in Pe und Ee Ausstülpungen der Oberfläche mit einem Durchmesser von 100 - 180 nm, die bis zu 60 nm aus der Membran heraus schauen.

Interessante Erkenntnisse haben wir über den Aufbau des inneren Membrankomplexes gewinnen können (Abb. 20). Er ist aus ausschließlich rechteckigen Plättchen zusammengesetzt, von denen die größten etwa 1,2 μm lang und 0,5 μm breit sind. Sie sind glatt, liegen in einer Ebene und ordnen sich in 11 Plättchenreihen leicht spiralg um den Parasiten herum an. Jedes dieser Plättchen ist an allen vier Seiten durch eine wenig gezackte Linie von dem benachbarten getrennt.

Abb. 18: Typischer Aufbau eines Zystozoiten von *Sarcocystis dispersa* im Ultradünnschnitt; 64. Tag p.i.

Abb. 19: Durchbruch durch einen Zystozoiten nach Gefrierätzung zur Darstellung der Organellen und der Pellikula; 64. Tag p.i.



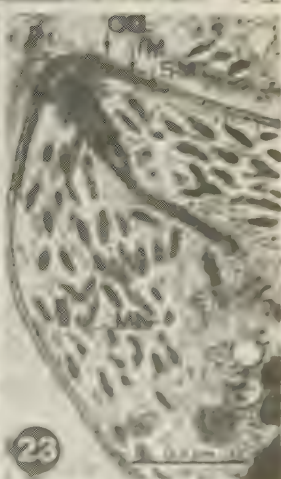
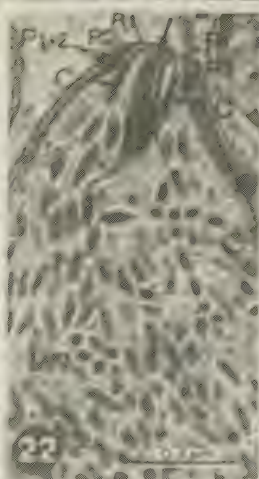
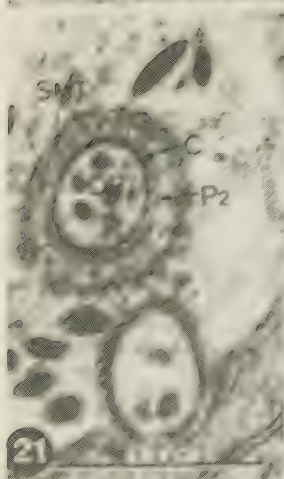
Die Oberfläche auf der P- und auf der E-Fläche ist unterschiedlich. Während die E-Fläche nur wenige wahllos verteilte intramembranäre Partikel zeigt, haben sich diese auf der P-Fläche in 23 Längsreihen, die parallel zueinander und zu den Begrenzungen der Plättchen stehen, angeordnet. Diese Längsreihen sind 15-20 nm voneinander entfernt. Die Größe der Partikel, die hier in größerer Anzahl als auf der E-Fläche vorkommen, beträgt 7-9 nm. Zwei der Linien in der rechten und linken Hälfte jeder Plättchenreihe laufen eng beieinander; der Abstand beträgt hier nur 10-12 nm (Abb. 20, Pfeile).

Abb. 20: Pellikulaaufbau eines Zystozoiten von *Sarcocystis dispersa* nach Gefrierätzung; unregelmäßige Partikelverteilung auf der Pe-Fläche; regelmäßig angeordnete Partikel, die annähernd parallele Linien auf den 11 Plattenreihen bilden; je zwei dieser Reihen pro Plättchen laufen eng beieinander (Pfeile)

Abb. 21: Querschnitt durch den apikalen Pol eines Zystozoiten mit Conoid (C), innerem Polring (P2) und subpellikulären Mikrotubuli (SMT)

Abb. 22: Apikalkomplex mit Ausführungsgängen der Rhoptrien (DR) in das Conoid (C) einmündend; Polringe (P1 und P2), preconoidale Ringe (R1 und R2)

Abb. 23: Längsschnitt durch den apikalen Pol mit äußerem Polring (P1) und den in Hell-Dunkel-Schraffierung dargestellten conoidalen Ringen



Deutlich ist auf den Ultradünnschnitten zu erkennen, daß die beiden inneren Membranen der Pellikula am vorderen und hinteren Pol verdickt sind und eine ringförmige Öffnung freilassen. So entstehen die beiden vorderen (P1 und P2) und der hintere Polring (Abb. 18 und 21 - 23). In die vorderen Polringe des Zystozoiten schiebt sich das Conoid (C) ein, das an der Spitze einen Durchmesser von 230 - 260 nm und an der Basis von 240 - 250 nm hat. Diagonale Streifung in Tangentialschnitten bzw. Hell-Dunkel-Struktur in Längsschnitten verdeutlichen die 7 conoidalen Ringe. Oberhalb dieser Strukturen sind die beiden präconoidalen Ringe (R1 und R2) und die apikale Öffnung (Pfeil) zu erkennen (Abb. 18 und 22). Ferner entspringen noch 22 subpelliculäre Mikrotubuli am vorderen (Abb. 21, SMT) und ziehen zum hinteren Zellpol (Abb. 18 und 23, SMT). Ein Zytostom ist nur auf ganz wenigen Schnitten als sackförmige Einstülpung zu erkennen; dabei handelt es sich um eine Einziehung der äußeren Membran der Pellikula.

Die keulenförmigen Rhoptrien (RH), meist im mittleren, selten im hinteren Drittel des Parasiten gelegen, sind 350 nm lang und 250 nm breit. In Durchbrüchen durch die Zystozoiten, wie sie bei der Gefrierätztechnik gelegentlich auftreten können, stellten wir fest, daß diese Gebilde nur wenige intramembranäre Partikel ohne jede Ordnung aufweisen (Abb. 19). Die Ausführungsgänge der zwei bis vier Rhoptrien mit einem Durchmesser von 50 nm vereinigen sich im vorderen Zelldrittel zu drei Hauptausführungsgängen und münden im Conoidbereich.

Die reiskornähnlich geformten Mikronemen (MN) füllen einen großen Teil des apikalen Zelldrittels bis hin zur Mitte bzw. an der Peripherie bis ins hintere Zelldrittel aus. Sie sind 160 - 195 nm lang, 65 nm breit und

haben am apikalen Pol ihren Ursprung. Der Abstand untereinander beträgt 45 - 48 nm. In Durchbrüchen zeigt sich, daß auf ihrer Pe- bzw. Ee-Fläche Partikel von 3 nm Durchmesser teilweise in kurzen Reihen angeordnet sind (Abb. 19). Das Lumen ist mit granulärem Inhalt ausgefüllt.

Der runde bis ovale Zellkern (Abb. 16-18, N) im hinteren Zelldrittel mißt etwa 1,25 μ m im Durchmesser. Auf seiner Oberfläche finden wir unregelmäßig verteilte Partikel vor (Abb. 19). Außerdem zeigen die mit der Gefrierätzung präparierten Zoitenkerne Mikroporen (Abb. 19, NP). In Kernnähe besitzt der Parasit noch Mitochondrien vom Tubulustyp mit einem Durchmesser von 0,5 μ m, Golgivesikel und endoplasmatisches Retikulum. Ribosomen sind auf den ganzen Zystozoiten verteilt, während Polysaccharidgrana (PG) vorwiegend am Rand aufgereiht zu finden sind.

Am 240. Tag p.i. finden wir im Semidünnschnitt eine degenerativ veränderte Muskelzyste (Abb. 24). Die normalerweise zahnradähnliche Zystenwand (CW) macht nun einen verwaschenen Eindruck. Die Septierung in der Zyste ist verschwunden mit Ausnahme an der Peripherie, wo noch eine gewisse Kammerung feststellbar ist und die Grundsubstanz sich türkis anfärbt. In den nur noch undeutlich erkennbaren Zoiten liegen Lipidvakuolen (L), die sich zu mehreren zusammenlagern und so mehr als die Hälfte des Zellvolumens ausfüllen. Das Karyoplasma hebt sich durch dunkelblau angefärbte Zonen (CH) hervor. Zwischen den Zystozoiten liegt eine schwach bläulich gefärbte, grundsubstanzähnliche homogene Masse.

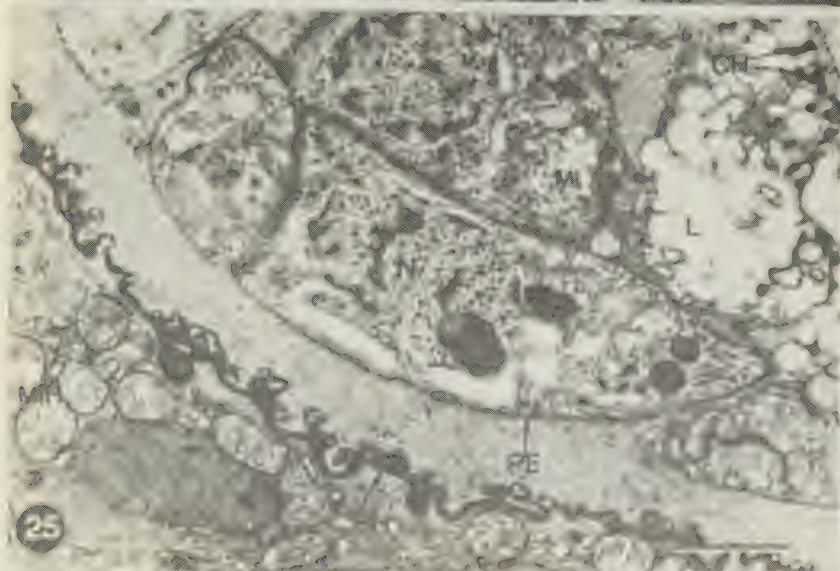
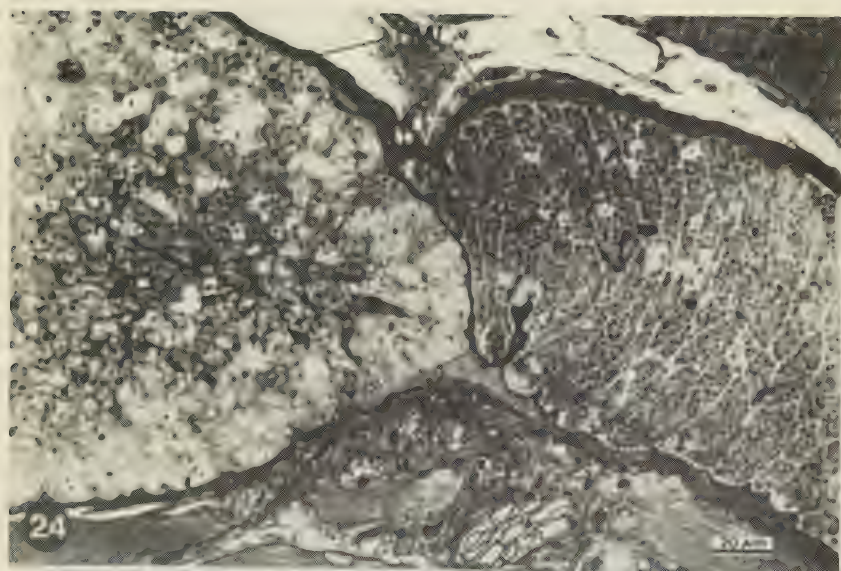
Im Ultradünnschnitt zeigen die degenerierten Zysten an den Zystenwänden deutliche Veränderungen (Abb. 11 und 25). Die Elementarmembran ist unscharf, an den Invaginationstellen treten Lücken von bis zu 50 nm auf, das drunter-

liegende osmiophile Material verbreitert sich stellenweise und scheint zu zerlaufen. An der Primärhülle (PH) findet man in unregelmäßiger Reihenfolge unterschiedlich ausgeformte Bläschen von wechselnder Größe. Die Invaginationen ins Zysteninnere (Pfeile) haben sich um das Doppelte verbreitert. Die Grundsubstanz (GS) ist homogen verdichtet; von Septierung kann nicht mehr gesprochen werden.

Neben mehr oder weniger stark geschädigten Zellen im Zentrum (Abb. 24), befinden sich auch noch intakte Parasiten in der degenerierten Zyste. Die ersten Veränderungen betreffen die Pellikula vor allem an ihrem äußeren nun stark gewellten Blatt; die Mitochondrien runden sich ab. Bald ist die innere Struktur nur noch schemenhaft zu erkennen; mit der Auflösung der Membranen kommt es zu einer völligen Desorganisation mit Vakuolenbildung (Abb. 25). Auch die Kernmembran quillt auf und ist nur noch an wenigen Stellen als solche zu sehen. Gleichzeitig beginnt eine deutliche Chromatinkondensation Platz zu greifen. Schließlich ist der Kern nur noch bruchstückhaft zu sehen; er löst sich auf, um von einer oft lipidgefüllten Vakuole ersetzt zu werden.

Abb. 24: Intakte (rechts), degenerierte (links) Muskelzyste von *Sarcocystis dispersa*; 240. Tag p.i., Semidünnschnitt

Abb. 25: Zugrundegehende Muskelzyste von *Sarcocystis dispersa*, umgeben von unregelmäßig aufgefalteter Primärhülle; Zystozoiten fallen der fettigen Degeneration anheim



In der die degenerierte Zyste umgebenden Muskulatur treten in einigen Bereichen der Verlust der Querstreifung und die Umformung der Myofibrillen zu scholligem Material ein. Daneben sehen wir eine Vermehrung von Wirtszellmitochondrien.

Bei den am 240.Tag p.i. getöteten Mäusen haben wir neben Zysten auch eine Ansammlung von freien Zystozoiten ohne Zystenwand in der Muskulatur gefunden (Abb. 26). Zwischen die eng in den Muskelfasern beieinanderliegenden Parasiten dringen Wirtszellmitochondrien vom Crista-Typ ein. Die Zystozoiten sind in eine homogene granuläre Masse eingebettet. Morphologisch unterscheiden sich diese Parasiten nicht von Zystozoiten.

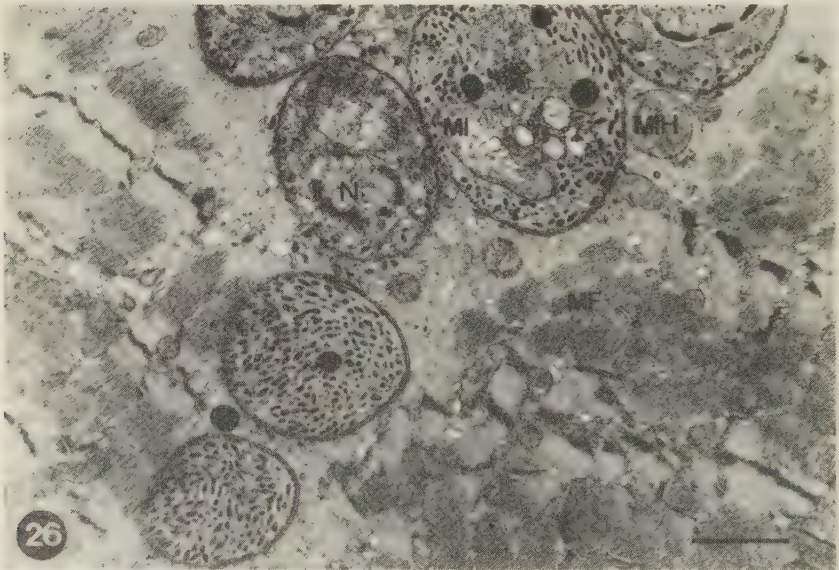


Abb. 26: Zystozoiten von *Sarcocystis dispersa* in der Muskulatur ohne umgebende Zystenwand; 240.Tag p.i.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Der Zystenbildung von *Sarcocystis dispersa* im Zwischenwirt geht eine ungeschlechtliche Vermehrung in Form der Schizogonie voraus. Bereits zwischen dem 4. und 5. Tag p.i. haben wir junge Schizonten in der Leber gefunden. Nach CERNA (1977) sowie MUNDAY (1977) war ebenfalls der 4. Tag p.i. positiv. Einen ähnlich frühen Beginn der Schizogonie haben CERNA und LOUCKOVA (1976) für *Sarcocystis cernae* beschrieben, bei der Falken als Endwirte und Feldmäuse als Zwischenwirte fungieren. Bei mit Sporozysten aus dem Kot der Netzpython infizierten Ratten traten am 5. Tag p.i. die ersten Schizonten in Tupfpräparaten verschiedener Organe auf (BREHM, 1979). Bei *Sarcocystis species* mit Nagern als Zwischenwirt scheint also eine kurze bzw. frühe extramuskuläre Entwicklung obligatorisch zu sein. Bei *Sarcocystis suicanis* wurden Schizonten erst 7 - 8 Tage p.i. (HEYDORN, MATUSCHKA und IPCZYNSKI, 1981), bei *Sarcocystis cruzi* erst 26 - 33 Tage p.i. (PACHECO und FAYER, 1977) beobachtet.

Bei der von uns untersuchten Species erfolgte die Entwicklung ausschließlich in Leberparenchymzellen, ebenso wie bei der von RUIZ und FRENKEL (1976) überprüften Schizogonie bei *Sarcocystis muris*. BREHM (1979) fand neben der Leber auch in Lunge, Milz, Niere sowie im bindegewebigen Teil des Zwerchfells Schizonten; diese Beobachtung machte auch ENZEROTH (1980) bei Sarkosporidien des Rehwildes. Bei Haustiersarkosporidien läuft dagegen die Schizogonie in den Gefäßendothelien verschiedener Organe ab (HEYDORN, MATUSCHKA und IPCZYNSKI, 1981; HEYDORN und MEHLHORN, 1978; PACHECO und FAYER, 1977; DUBEY, SPEER und DOUGLASS, 1980; u.a.).

Wie die Veröffentlichungen von FAYER (1977) über *Sarcocystis bovicanis*, von HEYDORN und IPCZYNSKI (1978) über *Sarcocystis suihominis* oder von BREHM (1979) über *Sarcocystis singaporensis* zeigen, läuft die Schizogonie in 2 Generationen ab. Aufgrund unserer Beobachtungen existiert für *Sarcocystis dispersa* nur eine Schizontengeneration. Ebenfalls nur eine Generation fanden CERNA und LOUCKOVA (1976) für *Sarcocystia cernae*.

Bei *Eimeria*-Arten liegen die Schizonten regelmäßig in einer parasitophoren Vakuole (CHOBOTAR und Mitarb., 1975; COLLEY, 1968; FERNANDO, 1974; SCHOLTYSECK und PIEKARSKI, 1965; SCHEFFIELD und HAMMOND, 1966; PORCHERT-HENNERE, 1977). SCHÖNWEITZ (1981) berichtet, daß diese Vakuole bei *Cystoisospora felis* von einer zweiblättrigen Membran umschlossen ist, die sich der Größenzunahme des Schizonten anpaßt. *Sarcocystis dispersa* hat dagegen keine parasitophore Vakuole. DUBEY, SPEER und DOUGLASS (1980) haben sich mit dem Penetrationsvorgang von *Sarcocystis cruzi*-Sporozoiten in die Zelle befaßt. Sie vermuten, daß diese aktiv eindringen oder durch Phagozyten transportiert werden; in jedem Falle wird eine Vakuole vom Wirt gebildet. Daß Schizonten von *Sarcocystis cruzi* trotzdem in keiner parasitophoren Vakuole liegen, erklären die Autoren damit, daß die Sporozoiten schon vorher diese Vakuole wieder abgebaut haben.

Je älter der Schizont ist, desto mehr und tiefer ist er ausgebuchtet bzw. invaginiert, was zu einem amöboiden Aussehen führt. Neben den Sarkosporidien wird dies auch bei *Eimeria nieschulzi* (COLLEY, 1968) beobachtet. Wir glauben, daß damit eine Oberflächenvergrößerung der Membran erreicht werden soll, um so den gesteigerten Austauschprozessen zwischen Parasit und Wirt im Zuge der

Reifung gerecht zu werden. Daß diese Austauschprozesse auch stattfinden und nötig sind, belegen PERROTTI, KEISTER und GELDERMANN (1971) auch an Toxoplasmen; beim intrazellulären Wachstum wird mehr Purin verbraucht, als der Parasit selbst zu bilden in der Lage ist. Er nimmt daher die Hilfe der Mitochondrien des Wirtes in Anspruch. In die gleiche Richtung zielt eine Beobachtung von TRAGER (1967) an *Plasmodium lophurae*. Er wies nach, daß der Parasit über ein Enzymsystem für die ATP-Synthese verfügt; da die selbst gebildete ATP-Menge für den Stoffwechsel nicht ausreicht, sind sie auf Wirtszellmitochondrien angewiesen.

In meinen Untersuchungen legten sich Mitochondrien des Wirtes bevorzugt in die Auffaltung der Schizontenpellikula ein. Dieser Mitochondriensaum wird übereinstimmend auch bei anderen Sarkosporidienarten beschrieben und als Zeichen erhöhter Stoffwechselaktivität des Wirtes angesehen.

Bei *Sarcocystis dispersa* konnten wir nachweisen, daß der Zellkern des Schizonten von einem anfangs runden zu einem später vielgelappten Gebilde heranwächst. Erst nach Ausbildung von Merozoitenanlagen an den Kernaussläufern führen Einziehungen der Schizontenpellikula zur Abtrennung einzelner Kernsegmente und schließlich zur Merozoitenbildung. Wir haben damit Beobachtungen, die von HEYDORN und MEHLHORN (1978) an *Sarcocystis suis hominis* und GÖBEL, ROMMEL und KRAMPITZ (1978) an *Frenkelia* in der Röteldmaus während der Schizogonie gemacht wurden, bestätigt. SENAUD und CERNA (1978) sind der Meinung, daß der Schizontenkern von *Sarcocystis dispersa* bereits vor Ausbildung der Tochterzellanlagen in mehrere große Teilkern zerfällt, an deren Ausläufern sich dann erst Spindelapparate sowie Merozoitenanlagen ausbilden.

Bei der ungeschlechtlichen Vermehrung von *Toxoplasma gondii* in den Epithelzellen des Katzendarmes (PIEKARSKI, PELSTER und WITTE, 1971; FERGUSON und Mitarb., 1974) entstehen die Merozoiten nicht synchron, sondern sukzessive. Die hier von den Autoren als Endodyogenie eingestufte Entwicklung beginnt mit einer Zweifachteilung des Schizontenkernes. Der ersten Teilung, bei der in den Tochterzellen noch keine Organellen ausgebildet werden, folgen weitere; dadurch entstehen viele Tochterzellen. Von ähnlichen Ergebnissen berichten SHEFFIELD und MELTON (1968); sie bezeichnen diese Entwicklung als "sequential endodyogenie". Aufgrund der teilweise eingetretenen Verwirrung über die Begriffe Schizogonie, Endodyogenie und Endopolygenie schlagen SCHOLTYSECK und NEMESERI (1979) vor, alle Vermehrungsformen von Kokzidien, bei denen Merozoiten entstehen, als "Merogonien" zu bezeichnen.

Zwischen Spindelapparat und Merozoitenanlage konnten wir stets ein sich in unterschiedlicher Ausformung darstellendes multimembranäres Organell beobachten. Weder SENAUD und CERNA (1978) haben bei *Sarcocystis dispersa* noch HEYDORN und MEHLHORN (1978) bei *Sarcocystis suis-hominis* dies festgestellt. Dagegen beobachteten DUBEY, SPEER und DOUGLASS (1980) bei *Sarcocystis cruzi* zwei doppelwandige Vesikel des Golgi-Komplexes. Die Lage dieser Vesikel in Mikronemennähe hat die Autoren zu der Vermutung veranlaßt, sie seien an der Mikronemensynthese beteiligt. Dem steht jedoch eine ausführliche Untersuchung von MEHLHORN und Mitarb. (1975) über die Entstehung der Mikronemen gegenüber. Darin wird festgestellt, daß diese Vesikel nur von einer Membran begrenzt sind.

Hinweise auf ein multimembranäres Organell liegen auch von PACHECO und FAYER (1977) für *Sarcocystis cruzi*, von SHEFFIELD (1970) für *Toxoplasma gondii* und für *Eimeria*-

species von FERNANDO (1974) vor. Es wird meist als Golgi-Adjunkt bezeichnet, ohne daß ein Zusammenhang mit dem Golgi-Apparat klar erkennbar wäre. Außerdem haben die Autoren nicht wie wir dieses Organell während der Fortpflanzungsphase, sondern am fertig ausgebildeten Parasiten beobachtet.

DUBEY, SPEER und DOUGLASS (1980) beschrieben bei *Sarcocystis cruzi* 2-4 Restkörper, die am Ende der Schizogonie im Zentrum des Schizonten übrigbleiben. Bei *Sarcocystis dispersa* existiert ebenso wie für *Sarcocystis suis hominis* (HEYDORN und MEHLHORN, 1978) ein solcher Restkörper nicht; das Schizontenzytoplasma wird anscheinend vollständig auf die jungen Merozoiten verteilt.

Während CERNA (1977) die ersten Muskelzysten 20 Tage p.i. fand, konnten wir sie bereits 15 Tage p.i. beobachten. Im Lichtmikroskop erscheint die Zystenwand von *Sarcocystis dispersa* ausgesprochen dünn; sie ähnelt damit *Sarcocystis equicani*s (GÖBEL und ROMMEL, 1980), *S. fusiformis* (Endwirt Hund) (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH, 1975b), *S. suis hominis* (LUDVIK, 1960) und den Sarkosporidienarten aus der Grantgazelle (JANITSCHKE, PROTZ und WERNER, 1976).

Im Elektronenmikroskop konnten wir charakteristische Merkmale der Zystenwand von *Sarcocystis dispersa*, im Unterschied zu den übrigen Sarkosporidien, beobachten. Die Primärhülle, 20 - 40 nm dick und von bläschenförmigen Einbuchtungen gebildet, zeigt zahnradartiges bzw. wellenförmiges Aussehen; sie läßt daher einen Vergleich mit den von MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN (1976) beschriebenen Zystenwandaufbau in der Muskulatur von Affen und Waalen zu, deren Primärhülle bis 60 nm breit ist und dabei die von *Sarcocystis suis canis* mit 25 nm (GÖBEL, KATZ und ERBER, 1976), *S. suis hominis* mit 30 nm (MEHLHORN und HEYDORN, 1977),

sowie Sarkosporidien-Species des Huhnes mit 25 nm und des Stares mit 50 nm (MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN, 1976) übertrifft. Der grundlegende Unterschied zu den anderen Sarkosporidien liegt bei *Sarcocystis dispersa* darin, daß die Primärhülle keinerlei Vorwölbungen nach außen abgibt. Stattdessen haben wir ab dem 18. Tag p.i. in das Zysteninnere vorspringende Invaginationen von unterschiedlicher Breite und Tiefe, die sich gelegentlich verästeln. Die Primärhülle behält in diesen Invaginationen ihre wellige Struktur bei. Sowohl MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN (1976) als auch SHEFFIELD, FRENKEL und RUIZ (1977) berichten, daß die Zystenwand von *Sarcocystis muris* ein mehr oder weniger glattes bis welliges Aussehen zeigt, Einfaltungen nach innen fehlen hier. Dies deckt sich auch mit den Ausführungen von CERNA (1977).

Bei den sehr teilungsaktiven Metrozyten haben wir gleiche Befunde über die Pellikula wie SCHOLTYSECK, MEHLHORN und MÜLLER (1974) für *Sarcocystis tenella* und HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH (1975) für *Sarcocystis fusiformis* (Endwirt Mensch). Die Pellikula ist dabei durch zahlreiche Einfaltungen gekennzeichnet. Die Metrozyten aller anderen Sarkosporidien haben eine glatte Oberfläche.

Bei den in Teilung befindlichen Metrozyten von *Sarcocystis equicani* beschreiben GÖBEL und ROMMEL (1980) zahlreiche Mikronemen, die sich unter der Pellikula anordnen. Diese Beobachtungen konnten wir ebenfalls bei *Sarcocystis dispersa* nachvollziehen. Die Autoren ziehen daraus den Schluß, daß die Mikronemen schon im voraus im Metrozyten gebildet und später in die fertigen Zystozoen eingebaut werden. Wir haben aber in einem sich in Teilung befindlichen Metrozyten von *Sarcocystis dispersa* sowohl in der Mutter- als auch in den Tochterzellen Mikronemen feststellen können, was bedeuten würde, daß diese

schon vor der endgültigen Ausbildung in die jungen Zystozoen gelangen oder dort gebildet werden.

Bei den Zystozoen findet sich der von Sarkosporidien her bereits bekannte dreischichtige Aufbau der Pellikula. Um den Wandaufbau noch besser studieren zu können, haben wir die Gefrierätzung verwendet. Dieses physikalische Verfahren ermöglicht eine dreidimensionale Darstellung, wobei das Auftreten von störenden Artefakten, wie sie bei chemischer Vorbehandlung im Rahmen der Dünnschnittechnik möglich sind, weitgehend ausgeschaltet werden kann. Wir haben festgestellt, daß der innere Membrankomplex aus 11 Reihen von glatten rechteckigen Plättchen besteht, die sich in Windungen um den Merozoiten herumlegen. PORCHERT und TORPIER (1977) haben bei *Sarcocystis tenella* 11 und bei *Toxoplasma gondii* 5-7 Reihen gezählt. Die Differenz von 2 Reihen bei *Toxoplasma* wird damit begründet, daß nicht genau festgelegt werden kann, um welche Merozoiten es sich handelt (Tachyzoiten oder Bradyzoiten). DUBREMETZ und TORPIER (1977) haben bei *Eimeria nieschulzi*-Schizonten 13 Streifen ermittelt und gleichzeitig auf den Zusammenhang zwischen der Anzahl der Streifen und der Zahl der subpellikulären Mikrotubuli hingewiesen; sie verhalten sich jeweils wie 1:2, dies entspricht 11:22 bei Sarkosporidien und 13:26 bei Eimerien. Die Stelle, unter der die subpellikulären Mikrotubuli verlaufen, läßt sich in der Pi- und Pm-Fläche des inneren Membrankomplexes eindrucksvoll nachvollziehen. Ebenso wie PORCHERT und TORPIER (1977) konnten auch wir an *Sarcocystis dispersa* pro Plättchenreihe zwei parallele eng nebeneinander verlaufende Linien beobachten, die aus Proteinpartikeln aufgebaut sind. Neben diesen Hauptlinien verlaufen ebenfalls parallel in Längsreihen angeordnet noch Nebenlinien.

In Negativ-Staining-Untersuchungen, wie sie von HAESE, MEHLHORN und PETERS (1977) an Sarkosporidien, Besnoitien und Eimerien durchgeführt wurden, sind Parallelen zu den Ergebnissen, die wir mit Hilfe der Gefrierätzung gewonnen haben, zu ziehen. Es ist hier die Rede von rippenähnlichen Strukturen, die am hinteren Pol ihren Anfang nehmen und sich in helikalen Linien um den Parasiten ziehen; dadurch entsteht ein maschenähnlicher Aufbau.

Die Zystozoiten von *Sarcocystis dispersa* lassen sich in drei Abschnitte grob unterteilen. Zum erstenmal wurde eine solche Dreiteilung von LUDVIK (1960) vorgeschlagen. Sie darf inzwischen als allgemein gültiges Merkmal gelten. Wir finden im vorderen Drittel neben dem Apikal-komplex Mikronemen, im mittleren Rhoptrien und Mikronemen sowie im hinteren Drittel Zellkern, Golgi-Apparat, Mitochondrien und endoplasmatisches Retikulum. SCHOLTYSECK, MEHLHORN und FRIEDHOFF (1970) haben bei Feinstrukturuntersuchungen des Conoids an Babesien, Toxoplasmen und Eimerien neben den conoidalen Ringen noch auf die Existenz zweier präconoidaler Ringe hingewiesen. Wir konnten bei *Sarcocystis dispersa* neben 7 conoidalen Ringen ebenfalls 2 präconoidale Ringe feststellen. Daneben haben wir, ebenso wie DUBEY, SPEER und DOUGLASS (1980) bei *Sarcocystis cruzi*-Merozoiten, aus der Schizogonie, bei *Sarcocystis dispersa*-Zystozoiten 2 vordere Polringe ermittelt.

Es ist uns aufgefallen, daß sich die Zahl der Mikronemen und Rhoptrien mit zunehmender Reife der Zyste erhöht. Diese Organellen, die bei Metrozyten erst im teilungsaktiven Zustand in geringer Zahl auftreten, sowie das Conoid, das hier noch nicht zu finden ist, sind offensichtlich ein Zeichen der Reife. SHEFFIELD, FRENKEL und

RUIZ (1977) sind der Meinung, daß diese Organellen des Apikalkomplexes beim Eindringen des Zystozoiten in die Wirtszelle eine Rolle spielen. Sie stützen sich dabei auch auf die Beobachtungen von VETTERLING, MADDEN und DITTEMORE (1971), die das Hervortreten des Conoids gesehen haben, nachdem die Parasiten mit Trypsin und Galle behandelt wurden; sie vermuten einen mechanischen Vorgang beim Eindringen von *Eimeria tenella* und *Eimeria adenoides*. NORRBY (1971) dagegen denkt an einen enzymatischen Mechanismus. Er hat aus den Rhoptrien von *Toxoplasma gondii* einen die Penetration fördernden Faktor isoliert.

Bei den am 240. Tag p.i. in Degeneration befindlichen Muskelzysten wird deutlich, daß die Wand den geringsten Veränderungen unterworfen ist. Demgegenüber sind die Zoitzen im Inneren schon deutlich verändert. Die wellig schrumpelige Struktur der Pellikula läßt einen Schrumpfungsprozeß vermuten. Der Abbau der Mitochondrien und des Zellkerns konnte studiert werden. Bei letzterem kommt es zunächst zu einer Kernwandhyperchromatose, später zur Nekrose und Karyolyse. GÖBEL, KATZ und ERBER (1978) beobachteten am 81. Tag p.i. bei *Sarcocystis suicanis* an abgestorbenen Muskelzysten Auflockerungen der Zystenwand, die sich schließlich zu Lücken entwickeln; aber auch hier ist die Zystenwand weitaus geringer geschädigt als die der fettigen Degeneration anheimfallenden Zystozoiten.

Frei zwischen den Muskelfasern zusammengelagerte Zystozoiten wurden bisher bei zystenbildenden Kokzidien nicht beobachtet. Die Parasiten lagen interzellulär; die Muskelzellen waren nicht beschädigt. Zahlreiche eingelagerte und an die Zoitzen heranreichende Mitochondrien vom

Crista-Typ sprechen für einen geregelten Stoffwechsel. Bei der Frage nach der Ursache für dieses entwicklungsbiologische Phänomen neigen wir zu der Ansicht, daß die Zystenwand an einer Stelle in breiter Front aufgebrochen ist, z. B. durch intensive Muskelbewegung der Maus, wodurch viele Zystozoiten aus der Zyste ausgepreßt wurden. Eine degenerative Auflösung der Wand durch Infiltration von Rundzellen könnte in diesem Fall schon abgeschlossen sein. Ein weiterer Erklärungsversuch geht von der Vorstellung aus, daß ein Metrozyt aus einer Muskelzyste ausgetreten ist, beispielsweise im Rahmen der Zysten-degeneration; er hat dann, da er nicht zur Zystenwandbildung befähigt ist, eine Fortpflanzung außerhalb der Wirtszelle durchgemacht. Dagegen spricht allerdings, daß wir nur Zystozoiten, aber niemals Metrozyten als teilungsaktive Zellen gefunden haben.

Sollten sich diese Ergebnisse bestätigen, würde das als Konsequenz Schwierigkeiten in der Diagnostik durch Fehlen der Zystenwände und einer eventuellen Verschleppung einzelner Zoiten durch Phagozyten oder auf dem Lymph- und Blutweg haben. Autoinfektionen wären dann nicht auszuschließen.

V. Zusammenfassung

Schizogonie, Endodyogenie und Zystenwandentwicklung von *Sarcocystis dispersa* wurden im Zwischenwirt Maus nach experimenteller Infektion mit Sporozysten aus dem Kot von Schleiereulen (*Tyto alba*) licht- und elektronenmikroskopisch untersucht.

Die Schizogonie des Parasiten läuft zwischen dem 4. und 6. Tag p.i. in den Leberparenchymzellen ab. Dabei wächst der Zellkern des Schizonten zu einem vielgelappten polyploiden Gebilde heran. Nach Ausbildung der Merozoitenanlagen führen Invaginationen der Schizontenhülle zur Abtrennung einzelner Kernsegmente und schließlich der Merozoiten. Zysten wurden am 15. Tag p.i. erstmals in der Skelettmuskulatur beobachtet. Sie sind zu dieser Zeit ausschließlich mit Metrozyten angefüllt und von einer zahnradähnlichen Primärhülle umgeben. Ab dem 18. Tag p.i. bildet die Wand tiefe Invaginationen ins Zysteninnere, wo bereits vereinzelt Zystozoiten auftreten. Die in den durch Zystengrundsubstanz gebildeten Kammern eingelagerten Parasiten vermehren sich durch Endodyogenie und zeigen den für alle zystenbildenden Kokzidien typischen Aufbau. Bei beiden Vermehrungsarten tritt regelmäßig zwischen Zellkern und Tochterzellanlage ein membranäres Organell auf.

Mit der Gefrierätzung konnte gezeigt werden, daß der innere helikal gewundene Membrankomplex der Zystozoiten aus 11 rechteckigen Plattenreihen zusammengesetzt ist. Auf der Pi- und Pm-Fläche der Pellikula sind Proteinpartikel in parallelen Reihen angeordnet. Die Anzahl der Plättchenreihen korrespondiert mit der Anzahl der subpellikulären Mikrotubuli.

Ab dem 240. Tag p.i. wurden degenerativ veränderte Muskelsysten beobachtet. Gleichzeitig traten zwischen den Muskelzellen freie Zystozoiten auf, die durch Muskelkompression aus den defekten Zysten ausgepreßt wurden. Morphologisch stellen sie intakte Parasiten dar, von denen neue ungeschlechtliche Vermehrungen ausgehen könnten.

Schöllner, F.: Micromorphological studies of the schizogony, endodyogeny, development of the cyst wall, and cyst degeneration of *Sarcocystis dispersa* in the mouse.

Summary

Schizogony, endodyogeny and cyst wall development of *Sarcocystis dispersa* were studied in the intermediate host by light and electron microscope after experimental infection with sporocysts from the faeces of the barn owl (*Tyto alba*).

The schizogony of the parasite takes place in the liver parenchyma cells between the 4th and 6th day p.i. and the nucleus of the schizont grows up to a polylobated polyploid structure. When the merozoite-anlagen have developed, invaginations of the schizont wall lead to the separation of single nucleus parts and finally to that of the merozoites. In skeletal muscles cysts are seen at the 15th day p.i. for the first time. At this stage they are filled by merozoites only and surrounded by a cog-

wheel like primary wall. From the 18th day p.i. onwards the wall forms deep invaginations into the inner part of the cyst where there are already seen few cystocoites. The parasites are embedded in small units formed by cyst groundsubstance. They were multiplied by endodyogeny and show the structure typical for all cyst forming coccidians. In both reproduction types there always appears a multimembranous organelle between nucleus and daughter cell anlage.

We were able to demonstrate by means of freeze fracture that the inner helically wound membran complex of the cystocoites is composed of 11 rectangular vesicles. On the Pi- and Pm-face of the pellicle protein particles are aligned in parallel lines. The number of the parallel vesicles corresponds with the number of the subpellicular microtubules.

Some muscle cysts, seen 240 days p.i. were already degenerated. At the same time there appeared free cystocoites between the muscle cells discharged from the defect cysts by muscle compressions. Being morphologically intact parasites, they could be the origin for new asexual reproductions.

VI. Literaturverzeichnis

- Bergmann, V., E. Kinder (1976): Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Wandstruktur von Sarkozysten in der Skelettmuskulatur von Wildschwein und Reh.
Mh. Vet. Med. 31, 785 - 788
- Branton, D. (1971): Freeze etching studies of membran structure.
Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. 261, 133 - 138
- Branton, D., S. Bullivant, N.B. Gilula, M.J. Karnovsky, H. Moor, K. Mühlethaler, D.H. Northcote, L. Packer, B. Satir, V. Speth, L.A. Staehelin, R.L. Steere, R.S. Weinstein (1975): Freeze etching nomenclature.
Sci. 190, 54 - 56
- Brehm, H. (1979): Untersuchungen über die Entwicklung von Sarcocystis singaporensis Zaman und Colley, 1976 in der Ratte (Rattus norvegicus, Berkenhout, 1769) und in dem Netzpython (Python reticulatus, Schneider, 1801).
Vet. med. Diss., München
- Cerna, Z. (1976): Relationship of oocysts of Isospora buteonis from the barn-owl (Tyto alba) to muscle cysts of sarcosporidians from the house mouse (Mus musculus).
Fol. parasitol. 23, 285

- Cerna, Z., M. Louckova (1976): *Microtus arvalis* as the intermediate host of a coccidian from the kestrel (*Falco tinnunculus*).
Fol. parasitol. 23, 110
- Cerna, Z. (1977): Cycle de développement sarcosporidien d'une coccidie, chez la souris, après infestation des animaux par des oocystes-sporocystes isolés de l'intestin de la chonette effrai (*Tyto alba*).
Protistologica XIII, 401 - 405
- Cerna, Z., J. Kolarova, P. Sulc (1977): *Sarcocystis cernae* Levine, 1977, excystation, life-cycle and comparison with other heteroxenous coccidians from rodents and birds.
Fol. parasitol. 25, 201 - 207
- Chobotar, B., E. Scholtyseck, J. Senaud, J.V. Ernst (1975): Fine structural study of asexual stages of the murine coccidium *Eimeria ferrisi*, Levine et Iweus, 1965.
Z. Parasitenkd. 45, 291 - 306
- Colley F.C. (1968): Fine structure of Schizonts and merozoites of *Eimeria nieschulzi*.
J. Protozool. 15, 374 - 382
- Dubey J.P., C.A. Speer, T.G. Douglass (1980): Development and ultrastructure of first-generation meronts of *Sarcocystis cruzi* in calves fed sporocysts from coyote faeces.
J. Protozool. 27, 380 - 387
- Dubremetz, J.F., G. Torpier (1977): Freeze fracture study of the pellicle of an Eimerian sporozoite.
J. ultrastruct. Res. 62, 94 - 109

- Enzeroth, P.R. (1980): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Lebenszyklus von *Sarcocystis* sp. (Sporozoa, Coccidia) im Reh (*Capreolus capreolus*) und Hund (*Canis familiaris*).
Rer. nat. Diss., Bonn
- Erber, M. (1977): Möglichkeiten des Nachweises und der Differenzierung von zwei *Sarcocystis*-Arten des Schweines.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 90, 480 - 482
- Erber, M., O. Geisel (1979): Untersuchungen zur Klinik und Pathologie der *Sarcocystis suicanis*-Infektion beim Schwein.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 92, 197 - 202
- Fayer, R. (1970): *Sarcocystis*: Development in cultured avian and mammalian cells.
Science 168, 1104 - 1105
- Fayer, R. (1972): Gametogony of *Sarcocystis* sp. in cell culture.
Science 175, 65 - 67
- Fayer, R., A.J. Johnson (1973): Development of *Sarcocystis fusiformis* in calves infected with sporocysts from dogs.
J. Parasit. 59, 1135 - 1137
- Fayer, R. (1977): The first asexual generation in the life cycle of *Sarcocystis bovicanis*.
Proc. Helminth. Soc. Wash. 44, 206 - 209

- Ferguson, D.J.P., W.M. Hutchison, J.F. Dunachie, J. C. Siim (1974): Ultrastructural study of early stages of asexual multiplication and microgametogony of *Toxoplasma gondii* in small intestine of the cat.
Acta Pathol. Microbiol. Scand. 82, 167 - 181
- Fernando, M.A. (1974): Fine structure of schizonts and merozoites of *Eimeria acervulina* in the chicken.
J. Parasit. 60, 149 - 159
- Gestrich, R., M. Schmitt, A.O. Heydorn (1974): Pathogenität von *Sarcocystis tenella*-Sporozysten aus den Fäzes vom Hund für Lämmer.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 87, 362 - 363
- Gestrich, R., A.O. Heydorn, N. Baysu (1975): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien: VI. Untersuchungen zur Artendifferenzierung bei *Sarcocystis fusiformis* und *Sarcocystis tenella*.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 88, 191-197, 201-204
- Gestrich, R., H. Mehlhorn, A.O. Heydorn (1975): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oozysten und Sporozysten der großen Form von *Isospora bigemina* der Katze.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Orig. A 233, 261 - 276
- Göbel, E., M. Rommel, H.E. Krampitz (1978): Ultrastrukturelle Untersuchungen zur ungeschlechtlichen Vermehrung von *Frenkelia* in der Rötelmaus.
Z. Parasitenkd. 55, 29 - 42

- Göbel, E., M. Katz, M. Erber (1978): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Entwicklung von Muskelzysten von *Sarcocystis suicanis* im Hausschwein nach experimenteller Infektion.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Orig. A 241, 368 - 383
- Göbel, E., M. Rommel (1980): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Zysten von *Sarcocystis equicanis* in der Ösophagusmuskulatur von Pferden.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 93, 41 - 47
- Goldmann, M., R.K. Carver, A.J. Sulzer (1958): Reproducing of *Toxoplasma gondii* by internal budding.
J. Parasit. 44, 161 - 171
- Haese, J.D., H. Mehlhorn, W. Peters (1977): Comparative electron microscope study of pellicular structures in coccidia (*Sarcocystis*, *Besnoitia*, *Eimeria*).
Internat. J. Parasit. 7, 505 - 518
- Heydorn, A.O., H. Mehlhorn, R. Gestrich (1975): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oozysten und Sporozysten von *Isospora hominis* Railliet et Lucet, 1891.
2. Feinstruktur der Metrozyten und Merozoiten.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Orig. A 232, 373 - 391
- Heydorn, A.O., H. Mehlhorn (1978): Light and electron microscopic studies on *Sarcocystis suis hominis*.
2. The Schizogony preceding cyst formation.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Orig. 240, 123 - 134

- Heydorn, A.O., V. Ipczynski (1978): Zur Schizogonie von *Sarcocystis suihominis* im Schwein.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 91, 154 - 155
- Heydorn, A.O., F.R. Matuschka, V. Ipczynski (1981): Zur Schizogonie von *Sarcocystis suicanis* im Schwein.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 94, 49 - 51
- Hofer, J. (1981): Untersuchung über die Entwicklung von *Sarcocystis muris* und *Sarcocystis dispersa* in der Maus und über Reaktionen des Zwischenwirtes nach ein- und mehrmaligen experimentellen Infektionen.
Vet. med. Diss., München
- Janitschke, K., D. Protz, H. Werner (1976): Beitrag zum Entwicklungszyklus von Sarkosporidien der Grantgazelle (*Gazella granti*).
Z. Parasitenkd. 48, 215 - 219
- Ludvik, J. (1960): The electron microscopy of *Sarcocystis miescheriana* Kühn (1865).
J. Protozool. 7, 128 - 135
- Mehlhorn, H., E. Scholtyseck (1973): Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cystenstadien von *Sarcocystis tenella* aus der Oesophagusmuskulatur des Schafes.
Z. Parasitenkd. 41, 291 - 310
- Mehlhorn, H., E. Scholtyseck (1974): Die Parasit-Wirtsbeziehungen bei verschiedenen Gattungen der Sporozoen (*Eimeria*, *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Frenkelia*, *Hepatozoon*, *Plasmodium* und *Babesia*) unter Anwendung spezieller Verfahren.
Microsc. Acta 75, 429 - 451

- Mehlhorn, H., A.O. Heydorn, R. Gestrich (1975a): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen von Cysten von *Sarcocystis ovicanis* Heydorn et al. (1975) in der Muskulatur von Schafen. Z. Parasitenkd. 48, 83 - 93
- Mehlhorn, H., A.O. Heydorn, R. Gestrich (1975b): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oozysten und Sporozysten der großen Form von *Isospora bigemina* des Hundes. I. Zur Entstehung der Cyste und der "Cystenwand". Zbl. Bakt. Hyg. I. Orig. A 232, 392 - 409
- Mehlhorn, H., A.O. Heydorn, R. Gestrich (1975c): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oozysten und Sporozysten von *Isospora hominis* Railliet et Lucet 1891. I. Zur Entstehung der Cyste und der Cystenwand. Zbl. Bakt. Hyg. I. Orig. A 231, 301 - 322
- Mehlhorn, H., J. Senaud, B. Chobotar, E. Scholtyseck (1975): Electron microscopic studies of cyst stages of *Sarcocystis tenella*. The origin of micronemes and rhoptries. Z. Parasitenkd. 45, 227 - 236
- Mehlhorn, H., W.J. Hartley, A.O. Heydorn (1976): A comparative ultrastructural study of the cyst wall of 13 *Sarcocystis* species. Protistologica XII, 451 - 467

Mehlhorn, H., A.O. Heydorn (1977): Light and electron microscopic studies of *Sarcocystis suis* hominis.
1. The development of cysts in experimentally infected pigs.

Zbl. Bakt. Hyg. I. Orig. A 239, 124 - 139

Mehlhorn, H., A.O. Heydorn, K. Janitschke (1977): Light and electron microscopical study on *Sarcocystis* from muscles of the Rhesus monkey (*Macaca malata*), Baboon (*Papio cynocephalus*) and Tamarin (*Saguinus (=Oediponida) oedipus*).

Z. Parasitenkd. 51, 165 - 178

Miescher, F. (1843): Über eigentümliche Schläuche in den Muskeln einer Hausmaus.

Ber. Verh. Naturf. Ges. Basel 5, 192 - 202

Munday, B.L., J.K. Barker, M.D. Richard (1975): The developmental cycle of a species of *Sarcocystis* occurring in dogs and sheep with observation on pathogenicity in the intermediate host.

Z. Parasitenkd. 46, 111 - 123

Munday, B.L. (1977): A species of *Sarcocystis* using owls as definitive hosts.

J. Wildl. Dis. 13, 205 - 207

Norrby, R. (1971): Immunological study on the host cell penetration factor of *Toxoplasma gondii*.

Infect. Immun. 3, 278 - 286

Pacheco, N.D.; R. Fayer (1977): Fine structure of *Sarcocystis cruzi* Schizonts.

J. Protozool. 24, 382 - 388

- Perrotto J., D.B. Keister, A.H. Geldermann (1971): Incorporation of precursors into Toxoplasma DNA.
J. Protozool. 18, 470 - 473
- Piekarski, G., B. Pelster, H.M. Witte (1971): Endopolygenie bei Toxoplasma gondii.
Z. Parasitenkd. 36, 122 - 130
- Porchert-Hennere, E. (1977): Etude ultrastructurale de la schizogonie chez la coccidie Globidium gilruthi.
Protistologica 13, 31 - 52
- Porchert, E., G. Torpier (1977): Etude du germe infectieux de Sarcocystis tenella et Toxoplasma gondii par la technique du cryo de 'capage'.
Z. Parasitenkd. 54, 101 - 124
- Rommel, M., A.O. Heydorn (1972): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. III. Isospora hominis (Railliet und Lucet, 1891) Weynon, 1923, eine Dauerform der Sarkosporidien des Rindes und des Schweines.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 85, 143 - 145
- Rommel, M., A.O. Heydorn, F. Gruber (1972): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. I. Die Sporozyste von Sarcocystis tenella in den Fäzes der Katze.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 85, 101 - 105
- Rommel, M., O. Geisel (1975): Untersuchungen über die Verbreitung und den Lebenszyklus einer Sarkosporidienart des Pferdes (Sarcocystis equi-canis n. spec.).
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 88, 468 - 471

Rommel, M., (1979): Frettchen, ein zusätzlicher Endwirt
für *Sarcocystis muris*.

Z. Parasitenkd. 58, 187 - 188

Ruiz, A., J.K. Frenkel (1976): Recognition of cystic
transmission of *Sarcocystis muris* by cats.

J. Infect. Dis. 133, 409 - 418

Rzepczyk, Chr., (1974): Evidences of a rat snake cycle
for *Sarcocystis*.

Int. J. Parasit. 4, 447 - 449

Rzepczyk, Chr., E. Scholtyseck (1976): Light and electron
microscope studies on the *Sarcocystis* of
Rattus fuscipes, an Australian rat.

Z. Parasitenkd. 50, 137 - 150

Schönweitz, W. (1981): Licht-und elektronenmikroskopische
Untersuchungen zur ungeschlechtlichen und ge-
schlechtlichen Vermehrung von *Cystoisospora*
felis im Dünndarm experimentell infizierter
Katzen.

Vet. med. Diss., München

Scholtyseck, E., G. Piekarski (1965): Elektronenmikros-
kopische Untersuchungen über Merozoiten von
Eimeria stiedae und *Eimeria perforans* und
Toxoplasma gondii.

Z. Parasitenkd. 26, 91 - 115

Scholtyseck, E., H. Mehlhorn, U. Friedhoff (1970): The
fine structure of the conoid of Sporozoa and
related organism.

Z. Parasitenkd. 34, 68 - 94

- Scholtyseck, E. (1973): Die Deutung von Endodyogenie und Schizogonie bei Kokzidien und anderen Sporozoen.
Z. Parasitenkd. 42, 87 - 104
- Scholtyseck, E., H. Mehlhorn, B.E.G. Müller (1974): Feinstruktur der Cysten und Cystenwand von *Sarcocystis tenella*, *Besnoitia jellisoni*, *Frenkelia* sp. und *Toxoplasma gondii*.
J. Protozool. 21, 284 - 294
- Scholtyseck, E., L. Nemeseri (1979): Feinstrukturelle Analyse von Entwicklungsprozessen bei Coccidien (*Eimeria*, *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Frenkelia*).
Parasit. Hung. 12, 11 - 17
- Senaud, J. (1967): Contribution a'l etude des sarcosporidies et des toxoplasmes (*Toxoplasmae*).
Protistologica 3, 167 - 232
- Senaud, J., Z. Cerna (1978): Le cycle de developpement asexue de *Sarcocystis dispersa* (Cerna, Kolarova et Sulc, 1977) chez la souris: etude au microscope electronique.
Protistologica XIV, 155 - 176
- Sheffield, H.G., D.M. Hammond (1966): Fine structure of merozoites of *Eimeria bovis*.
J. Parasit. 52, 595 - 606
- Sheffield, H.G., M. Melton (1968): The fine structure and reproduction of *Toxoplasma gondii*.
J. Parasit. 54, 209 - 226

- Sheffield, H.G. (1970): Schizogony in *Toxoplasma gondii*: an electron microscope study.
Proc. Helminthol. Soc. Wash. 37, 237 - 242
- Sheffield, H.G., J.K. Frenkel, A. Ruiz (1977): Ultra-structure of the cyst of *Sarcocystis muris*.
J. Parasit. 63, 629 - 641
- Trager, W. (1967): Adenosine triphosphate and pyruvic and phosphoglyceric kinases of the malaria parasite *Plasmodium lophurae*.
J. Protozool. 14, 110 - 114
- Vetterling, J.M., P.A. Madden, N.S. Dittmore (1971): Scanning electron microscopy of poultry coccidia after in vitro excystation and penetration of cultured cells.
Z. Parasitenkd. 37, 136 - 147
- Zaman, V., F.C. Colley (1976): Light and electron microscope observations of the life cycle of *Sarcocystis orientalis* sp. n. in the rat (*Rattus norvegicus*) and the Malaysian reticulated python (*Python reticulatus*).
Z. Parasitenkd. 47, 169 - 185.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes im Institut.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. E. Göbel für seine hilfreichen Anregungen und Ratschläge, die in hohem Maße zum Gelingen der Arbeit beitrugen.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei Frau H. Meyer für ihre hervorragende Beratung und Hilfe in allen technischen Fragen bedanken.

Lebenslauf

Am 9. Juli 1954 wurde ich, Fritz Schöller ,als Sohn des Landwirts Herbert Schöller und seiner Ehefrau Martha, geb. Mann in Rothenburg ob der Tauber geboren.

Von 1960 - 1965 besuchte ich die Volksschule in Habelsee und wechselte anschließend auf das Reichsstadtgymnasium in Rothenburg ob der Tauber,wo ich 1974 die Reifeprüfung ablegte.

Nach Ableistung eines 15-monatigen Grundwehrdienstes nahm ich zum Wintersemester 1975/76 das Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München auf.

Im Dezember 1980 legte ich die Tierärztliche Prüfung ab und erhielt im Januar 1981 die Approbation als Tierarzt.

Seitdem bin ich mit der Anfertigung einer Dissertation am Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Universität München beschäftigt.

